

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie

Spécialité/Option : **Biodiversité et écologie des zones humides**

L'effet des métaux lourds sur le système antioxydants chez le mollusque bivalve *Donax trunculus*

Présenté par :

Dafri Imane
Soudani Asma

Devant les jurys :

Président (e) : M ^{me} Chahat Nora	(M.A.A)	Université de Guelma
Examineur : Mr Nedjah riad	(M.C.A)	Université de Guelma
Encadreur : M ^{me} Drif Fahima	(M.C.B)	Université de Guelma

Juin 2015

Remerciements

*Nous sommes honorées de notre encadreur :
Mme. Drif Fahima, pour avoir accepté de diriger et
suivre de près ce travail, qui a été d'une grande aide
dans la réalisation de ce travail, ses conseils, ses
orientations, ainsi que son soutien scientifique et
moral, nous ont permis de mener à bien la
réalisation de ce travail.*

*Nos vifs remerciements S'adressent également :
A Mme. Chahatt N et Mr. Nedjeh R. membres de
jury pour avoir accepté de juger notre travail et de
nous avoir honorées par leurs présences.*

*Ainsi, un spécial merci pour Mr. Moussaoui Abd el
karim et Mr. Djekoun Mohamed pour leur aide.*

*A toute personne qui nous a aidées pour la
réalisation de ce travail.*

Dédicace

Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux qui par sa grâce nous avons réalisé ce modeste travail.

A nos très chers parents ;

Que ce travail soit l'un des fruits témoignant de longues années de bienveillance et leur apporte l'assurance de notre profonde affection.

A nos très chers frères et sœurs ;

A tous nos amis ;

A toute personne qui nous a aidés durant notre parcours d'étude.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE.....1

CHAPITRE 1 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.	LA POLLUTION MARINE.....	4
1.	Types de pollutions marines	4
	Pollution chimique.....	4
	• Micropolluants organiques	4
	Micropolluants inorganiques	4
	1.1.1 Pollution métallique	5
	1.1.2 Pollution par les hydrocarbures	5
	1.2 Pollution organiques	5
	1.3 Pollution thermique	5
2.	Sources de pollution métallique	6
	2.1 Naturelles	6
	2.2 Activités humaines	6
3.	La pollution en Méditerranée occidentale.....	7
4.	La pollution des eaux marines en Algérie	7
II.	LES METAUX LOURDS.....	8
1.	Les types des métaux lourds	8
	1.1 Les métaux non essentiels ou métaux toxiques	8
	1.2 Les métaux essentiels ou oligoéléments	8
2.	Distribution des ETM dans les sols	9
3.	Différents formes métalliques dans les eaux	9
4.	Mobilité et biodisponibilité des métaux lourds	9
5.	Cycle biogéochimique des métaux lourds dans le milieu marin.....	10
	5.1 Précipitation.....	10
	5.2 Absorption	10
	5.4 Adsorption.....	10
	5.4 Sédimentation.....	10

6. Toxicité.....	10
6.1 Effet sur la membrane cytoplasmique	11
6.2 Effet sur le noyau.....	11
6.3 Effet sur le système vacuolaire lysosomal	11
6.4 Effets sur les mitochondries	12
6.5 Effet sur le réticulum endoplasmique	12
7. Le bio indicateur de pollution.....	12
III. LES MOLLUSQUES.....	13
1. Généralités	13
1.1 Physiologie des espèces.....	13
1.1.1 Alimentation	13
1.1.2 Reproduction	13
2. LES BIVALVES	14
3. L'espèce <i>Donax trunculus</i>	15
3.1 Description morphologique	15
3.2 Anatomie.....	15
3.3 Classification	16
3.4 Ecologie et biologie de l'espèce	16
3.5 Reproduction	17
3.6 Cycle de vie	17
3.7 Habitat	18
3.8 Statut de conservation	18
1.10 Pertinence pour l'Homme et les écosystèmes	18
3.10 Techniques d'échantillonnage	19
IV. STRESS OXYDANT	20
1. Stress oxydant	20
1.1. Définition	20
1.2. Origine du stress oxydant.....	20
2. Les radicaux libres.....	20
2.1 Définition	20
2.2 Distinction des radicaux libres	20
2.3 Origine des radicaux libres.....	21
2.3.1 Sources exogènes.....	21

2.3.2 Sources endogènes.....	21
3. Les antioxydants.....	22
3.1 Définition	22
3.2 Caractéristiques des antioxydants	22
3.3 Classification des systèmes antioxydants.....	23
3.3.1 Les antioxydants enzymatiques.....	23
3.3.1.1 Su peroxydes Dismutases (SODs).....	23
3.3.1.2 La catalase.....	23
3.3.1.3 Les glutathion peroxydases (GPx).....	23
3.3.2 Les antioxydants non enzymatiques.....	24
3.3.2.1 Le glutathion réduit (GSH) et oxydé (GSSG).....	24
3.3.2.2 Vitamine E (tocophérol).....	25
3.3.2.3 Vitamine C (Acide ascorbique).....	25
3.3.2.4 La malondialdéhyde (MDA).....	25
3.4 Dégâts et les biomarqueurs du stress oxydant.....	25
3.4.1 Peroxydation lipidique.....	25
3.4.2 Oxydation des protéines.....	26
3.4.3 Dommages oxydatifs de l'ADN.....	27
3.5 Pathologies liées au stress oxydant	27
CHAPITRES 2 : PARTIE PRATIQUE	
I. MATERIEL ET METHODES	28
1. Matériel.....	28
1.1 Choix de l'espèce.....	28
1.2 Choix des sites.....	28
1.2.1 Site 1 «El-Battah»	29
1.2.2 Site2 «El-Chatt»	29
1.2.3 Site3 «Seybouse»	30
2. Méthodes.....	31
2.1 Préparation de l'homogénat.....	31
2.2 Dosage des protéines.....	31
2.3 Dosage du glutathion.....	32
2.4 Dosage de malondialdéhyde (MDA).....	33
2.5 Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx).....	35

3. Etude statistique.....	36
II. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	37
1. Résultats.....	37
1.1 Glutathion réduit (GSH).....	37
1.2 Malondialdéhyde (MDA).....	38
1.3 Glutathion peroxydase (GPx).....	39
2. Discussions	40

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

LIST D'ABREVIATIONS

ADN : L'acide Désoxyribonucléique

AG : Argent

An : Année

ARN_m : L'acide Ribonucléique Messenger

As : Arsenic

AAS : Acide Salicylique

ATP : Adénosine Triphosphat

BSA : Sérum Albumine Boeuf

BHT : hydroxytoluène butylé

Cd : Cadmium

Cu : Cuivre

Cr : Chrome

Cm² : Centimètre Carrée

CEC : Capacité Des Echanges De Cation

CAT : La Catalase

DBO₅ : Demande Biologie en Oxygène Dans 5 Jours

DTNB : 5-5'-Dithiobis (2-Nitrobenzoïque Acide)

ETM : Eléments Traces Métalliques

E. coli : Escherichia Coli

EDTA : Ethylenediamine tetraacetic

EH : Potentiel Redox

E : Est

Fe : Fer

Fig. : Figure

g : Gramme

GPx : Le Glutathion Peroxydase

GSH : Le Glutathion Réduit

GCL : La Glutamate Cystéine Ligase

GSSG : Glutathion Oxydée

(GS-) : Sulfure de Glutathion Oxydé

H : hydrogène

Hg : Mercure

HCT : Hydrocarbures Totaux

H₂O₂ : Le Peroxyde d'hydrogène

HSP : Heat Shock Protein

HCl : Acide chlorhydrique

H₂O : L'eau

km³ : kilomètres cube

l : Litre

LOO° : Le Radical Lipidique Peroxyle

LH : L'hydrogène de l'acide gras

LOOH : L'hydro peroxyde

Mn : Magnésium

Mo : Molybdène

mg : Milli gramme

ml : Millilitre

MTs : Métallothionéine

MDA : La Malondialdéhyde

min : Minutes

m³ : mètres cube

m : mètres

mm : millimètres

Ni : Nickel

NO[•] : Le Monoxyde d'azote

N : Nord

NaCl : Chlorure de sodium

NH₂ : Amidogène

ng : Nano gramme

ONOOH : Le nitroperoxyde

ONOO[°] : Le peroxyde nitrate

O₂ : L'oxygène

O₂[°] : L'anion super oxyde

Pb : Plomb

POP : Pollutions organiques permanentes

PH : Potentiel hydrogène

PCF : Bioconcentration

RL : Les radicaux libres

ROS : Les espèces réactives de l'oxygène

ROO[°] : Le radical peroxyde

RO[°] : Le radical alkoxyde

ROOH : L'Hydroperoxyde

Se : Sélénium

S : Soufre

SODs : Su-peroxydes dismutases

SH : Groupement thiols

t : Tonne

TBS : Tris buffer saline

TBA: Thiobarbuturic acid

Tris: Tris-(hydroxymethyl) amino methane

TCA : Trichloroacetic acid

Zn : Zinc

ZNS : Zone non saturée

ZS : Zone saturé

%: Pourcent

µm : Micro môle

·OH : Le radical hydroxyle

¹O₂ : L'oxygène singlet

4-HNE : Le 4-hydroxynonéanal

8-OHdG : 8-Hydroxy-2-déoxyguanosine

°C : Degré celsius

-NH₂ : groupement d'amine

°HO : radical perhydroxyle

-SH : Groupement Sulfhydryle

µl : Micro litre

λ : lamda

LISTE DES FIGURES

Figures 1 : Anatomie général d'un mollusque bivalves (Moyes *et al.*, 2007) .

Figures2 : Anatomie interne de *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758).

Figure 3 : carte géographique montrer la présence de l'espèce *Donax trunculus* à l'échelle mondial.

Figure 4 : Carte géographique de la côte d'Annaba, représentant les sites d'échantillonnages de l'espèce *Donax trunculus*.

Figure 5 : Le site1 El-Battah, il est plutôt sous l'influence directe des apports de l'estuaire du Mafragh. Il est considéré comme un site non pollué.

Figure 6 : Le sites2 El-Chatt, il est soumis indirectement aux influences des décharges de l'Oued Seybouse ; et Mafragh.

Figure 7 : Le site 3 du Seybouse, il reçoit directement les apports urbains et industriels, en plus des apports d'Oued Seybouse. Il est fortement pollué.

Figure 8 : Gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.

Figure 9 : Réaction des dialdéhyde malonique avec l'acide Thio-barbiturique.

Figure 10 : Variation de GSH dans le mollusque bivalve *Donax trunculus* (nmoles/mg protéine).

Figure 11 : Variation de MDA dans le mollusque bivalve *Donax trunculus* ($nmol/mgprotéine$).

Figure 12 : Variation de GPx dans le mollusque bivalve *Donax trunculus* ($\mu molGSH/n gprotéine$).

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Position systématique de *Donax trunculus*



Introduction générale



INTRODUCTION

La biodiversité présente la diversité des êtres vivants et des écosystèmes concernant la faune et la flore. Elle intègre les interactions qui existent entre les différents organismes et leurs milieux de vie. Egalement, elle désigne une complexité et une richesse.

La croûte terrestre présentée par la biosphère, contenant cette dernière de grandes quantités d'éléments indispensables à la vie tels que l'oxygène, l'eau, le carbone, l'azote, le phosphore, le calcium et le potassium ...etc. Ainsi que, l'hydrosphère qui emprisonne toutes zones occupées par de l'eau ou de la glace, donc présentant les océans, les mers, les cours d'eau, les lacs, les glaciers, les calottes polaires et enfin les eaux souterraines.

Le taux d'eau présent sur terre sous forme liquide, solide ou gazeuse, occupe un volume de 1.424.192.640 km³. Une proportion salée de 97 % et autre douce de 3 %. Précisons que 59,85 % de cette portion d'eau douce est emprisonnée dans les glaces des pôles. Seulement 0,03 % d'eau présente sur terre est directement consommable. ⁽⁵⁾

La contamination des sources douces, saumâtres, souterraines ou superficielles d'eau peuvent se présenter sous différentes formes, soit industrielle ou urbaine. Cette contamination peut aussi concerner des interfaces, dont les estuaires, les zones humides et en particulier leurs sédiments qui peuvent accumuler puis relâcher certains polluants. Les sédiments peuvent être fortement pollués et conserver les traces de pollutions anciennes (on y trouve parfois aussi de nombreux plomb de chasse et de pêche là où ces activités sont pratiquées). ⁽¹⁾

Notant que, l'eau est une substance indispensable à raison qu'elle se renouvelle et se nettoie naturellement en permettant au polluants de s'infiltrer (par le processus de sédimentation) ou de se détruire, en diluant les polluants au point qu'ils aient des concentrations qui ne sont pas nuisibles. Cependant, ce processus naturel demeure et devient très compliqué à l'existence de quantités importantes de polluants administrés dans l'eau. L'utilisation incontrôlable des sources d'eau potable renseigne sur l'existence de différents polluants. ⁽¹⁾

La pollution d'eau survient lorsque des matières sont déversées dans l'eau qui en dégrade la qualité. Elle inclut toutes les matières inutiles qui ne peuvent être détruites par l'eau naturelle. Autrement dit, n'importe quelles matières ajoutées à l'eau qui sont au-delà de sa capacité à les détruire sont considérées comme polluantes. La pollution peut, dans certaines circonstances, être causée par la nature elle-même, comme lorsque l'eau coule par des sols qui a un taux élevé d'acidité. Par contre, la plupart du temps ce sont les activités humaines qui polluent l'eau. ⁽⁴⁾

Cependant, les sources principales de la pollution précises incluent les usines et les installations de traitements des eaux usées. D'autres sources sont plus difficiles à trouver car on ne peut pas les retracer jusqu'à un emplacement particulier. Elles incluent les écoulements de sédiments, engrais, produits chimiques, déchets d'animaux de ferme, champs, chantiers et mines. La distinction de plusieurs catégories de ces sources est la suivante :

1. Les déchets biodégradables venant principalement des humains et les déchets d'animaux. Lorsque les déchets biodégradables coulent dans une source d'eau ils fourniront de l'énergie (carbone organique) aux bactéries présentes dans l'eau. S'il existe autant de matières organiques dans l'eau, les bactéries qui consomment l'oxygène se développent rapidement. Ils consommeront tout l'oxygène et détruiront la vie aquatique.
2. Les substances nutritives des plantes comme le phosphate et le nitrate couleront dans l'eau par les déchets, l'écoulement, l'engrais et le bétail. Le phosphate et le nitrate sont aussi trouvés dans les déchets industriels.
3. La chaleur est une source de pollution de l'eau. Lorsque la température de l'eau augmente, le nombre de particules d'oxygènes dissoutes diminue. La pollution thermique peut être déclenchée naturellement comme des sources d'eaux chaudes et des étangs peu profonds l'été ou par l'homme comme des déversements d'eau qui a été utilisée pour refroidir des centrales électriques ou d'autres équipements industriels. Les poissons et les plantes demandent une certaine température et un certain niveau d'oxygène pour survivre et c'est pour cette raison que la pollution thermique réduit sérieusement la diversité de la vie aquatique dans l'eau.
4. Le dépôt de sédiment est une source commune de la pollution des eaux. Ce dépôt consiste en des matières minérales ou organiques qui sont soit lavés ou transportés par le vent dans des sources d'eau. La pollution par le dépôt de sédiment est difficile à identifier, comme la construction agricole, le bétail, les inondations et les écoulements provenant des villes.
5. Des produits toxiques et dangereux sont la plupart du temps des matériaux fait par l'Homme qui ne sont pas utilisés ou disposés correctement. Les sources de pollution chimique incluent les déversements industriels et les fuites de pétroles.
6. Des polluants radioactifs provenant des déversements d'eaux usées des usines, des hôpitaux et des mines d'uranium. Ces polluants peuvent aussi venir d'isotopes naturels comme le radon. Les polluants radioactifs sont très dangereux et peuvent prendre des milliers d'années avant de ne plus être dangereux pour l'environnement.

Les sources de pollution chimique incluent les écoulements provenant des routes revêtues et des pesticides. Beaucoup de gens pensent que la pollution est due en partie par les industries. Mais l'utilisation domestique de produits chimiques peut contribuer à la pollution chimique comme des nettoyeurs ménagers, des teintures, de la peinture et des solvants sont aussi toxiques lorsqu'ils sont envoyés dans les drains ou dans les toilettes. ⁽²⁾

Beaucoup d'espèces ont été utilisées comme bio indicateurs de cette pollution marine, parmi ces espèces notant les mollusques bivalves.

Les mollusques sont des invertébrés aquatiques, en grande majorité marins, bien caractérisés par la présence constante de deux valves mobiles autour d'une charnière, qui protègent leurs corps en totalité ou en partie. Ce sont depuis longtemps considérés comme produits d'alimentation des populations humaines côtières. La meilleure connaissance des cycles reproducteurs de cet embranchement a conduit au développement d'écloseries et de nouvelles techniques d'élevage. Une meilleure compréhension des dangers potentiels de la consommation de fruits de mer crus ou pas assez cuits a permis d'améliorer le stockage et la transformation de ces animaux par l'industrie agroalimentaire. ⁽³⁾

Notre problématique repose sur la bio-surveillance des métaux lourds, signalant la pollution côtière de trois sites d'étude situés à l'extrême Est du golfe d'Annaba. On a choisie El-Chatt, Seybouse et El-Battah comme site pollué par les eaux usés (organique), pollution industriel et site référence respectivement. Egalement, l'espèce *Donax trunculus* a été choisie comme modèle biologique.

On a effectué un dosage de 3 antioxydants :

- Dosage de Malondialdéhyde MDA
- Dosage de Glutathion peroxydase GPX
- Dosage du Glutathion réduit GSH



Chapitre n° 1 : partie théorique



I. LA POLLUTION MARINE

On appelle pollution une dégradation ou une altération de l'environnement, en général liée à l'activité humaine par diffusion directe ou indirecte de substances chimiques, physiques ou biologiques qui sont potentiellement toxiques pour les organismes vivants ou qui perturbent de manière plus ou moins importante le fonctionnement naturel des écosystèmes. Outre, ses effets sur la santé humaine et animale, elle peut avoir pour conséquences la migration ou l'extinction de certaines espèces qui sont incapables de s'adapter à l'évolution de leur milieu naturel. ⁽⁶⁾

L'une des plus importantes et des plus inquiétantes des pollutions de l'environnement est celle du milieu marin. La pollution marine résulte de tous les produits rejetés dans les mers et les océans, en conséquence de l'activité humaine. Cette pollution arrive dans le milieu marin par le vecteur des voies fluviales, des vents, de l'air en basse altitude ou est directement rejetée dans la mer. La pollution marine comprend la pollution de l'eau et des sédiments marins. Généralement, toutes les atteintes aux écosystèmes marins causées par des rejets de substances nuisibles par leur nature ou leur quantité. ⁽⁶⁾

1. Types de pollutions marines

On note 3 types de pollution :

1.1 Pollution chimique :

Ce type de pollution est engendré par des rejets de produits chimiques à la fois d'origine industrielle et domestique. Ces polluants sont distingués selon **Galaf et Ghannam (2003)** en :

- **Micropolluants organiques :**

Tel que, les hydrocarbures, les pesticides, les détergents et autres composés chimiques, qui s'assemblent dans la famille des polluants organiques permanent "POP".

- **Micropolluants inorganiques :**

Parmi les plus importants citant les métaux traces ou lourds. Cependant, le danger de ces polluants dépend de leur nature biochimique. Certains sont hydrosolubles et leur action est minime. D'autres sont liposolubles avec un pouvoir de se concentrer au niveau des lipides et par conséquent, ils vont emprunter la chaîne trophique.

Il existe d'autres polluants ayant un pouvoir contaminant plus nuisible, il s'agit des molécules qui s'échappent de la dégradation, elles sont appelées récalcitrantes (résistantes) (**Galaf et al., 2003**).

1.1.1 Pollution métallique :

Les métaux lourds sont dangereux pour les systèmes aquatiques, ils pénètrent dans les écosystèmes avec les précipitations, les cours d'eau, les effluents et les rejets accidentels abandonnés comme sous-produits des industries, des mines ou s'échappant des bateaux.

Dans les écosystèmes aquatiques naturels, les métaux se trouvent à de faibles concentrations, généralement de l'ordre de (ng/l ou µg/l).

Signalant que les plus dangereux pour l'homme et les écosystèmes sont le mercure, le cadmium et le plomb, l'arsenic, le titane et le chrome (**Forbes et al., 1997**).

1.1.2 Pollution par les hydrocarbures :

La pollution qui résulte des hydrocarbures est liée soit à l'extraction, au transport, ou à l'utilisation du pétrole et de ses dérivés (lubrifiants, carburants). Ajoutant, le nettoyage de citernes (dégazage) et les opérations de déballastage ; 450000 t/an de ballast et 90000 t/an de substances liquides et nocives (surtout l'huile) sont rejetées en méditerranée (**Bouquet, 2001**).

1.2 Pollution organiques :

Cette forme est provoquée par les eaux usées d'origine domestiques et industrielles. Due à la matière organique, existence des microorganismes et aux fermentescibles rejetés dans ces milieux. Pendant la saison estivale, on constate sur les côtes nord méditerranéennes, due à l'affluence massive des touristes, une augmentation de pollution des eaux marines par des matières organiques fermentescibles d'autant plus que les stations d'épuration sont saturées (**Delavif, 2001**).

Notant aussi, que l'excès des sels nutritifs comme le nitrate entraîne le développement d'algues vertes (les ulves) qui recouvrent alors de vastes surfaces, ce phénomène perturbe les conditions de vie de la faune locale, parfois jusqu'à la mort (**Bendimered, 2000**).

1.3 Pollution thermique :

Les processus de refroidissement des centrales thermiques et thermonucléaires peuvent provoquer une pollution par leurs effluents réchauffés qui entraînent une élévation de température de milieu récepteur qui peut engendrer une diminution de l'oxygène, une augmentation de la sensibilité des organismes à d'autres polluants et aux agents pathogènes

ou alors une perturbation du cycle biologique de nombreuses espèces pélagiques ou benthiques.

2. Sources de pollution métallique :

2.1 Naturelles :

La croûte terrestre est formée de 95 % de roches volcaniques et 5 % de roches sédimentaires. Les concentrations en métaux dans divers types de sols, peuvent varier d'un facteur 1000. Les sols dérivés de l'érosion des roches volcaniques acides (rhyolites, granites), contiennent généralement moins d'éléments essentiels (Cu, Co, Zn...) que ceux issus de roches sédimentaires (argiles, schistes). La redistribution des éléments a lieu grâce aux phénomènes géophysiques d'érosion, de lessivage, ou aux activités chimiques et biologiques de solubilisation, précipitation ou complexation (**Thornton, 1981**).

2.2 Activités humaines :

Chaque année des millions de tonnes de métaux lourds sont extraits de leurs gisements naturels et redistribués dans la biosphère. Toutes ces activités interviennent sur des échelles temporelles relativement restreintes et engendrent des concentrations locales importantes qui sont à l'origine des perturbations des écosystèmes et de la chaîne alimentaire (**Nriagu et Pacyna, 1988**).

Les procédés utilisés par les industries d'extraction minières et les fonderies (broyage, filtration, lavage, fusion, raffinage...) génèrent des transformations importantes des métaux lourds dans les effluents et l'atmosphère. Notamment, l'utilisation des métaux sous n'importe quelle forme (métallurgie, galvanoplastie, tannerie, chimie...) ainsi, les activités de combustion des énergies fossiles (centrales thermiques, industrie automobile...), et les usines d'incinération ou de traitement de déchets (**Thornton, 1981**).

Le secteur agricole utilise aussi des dizaines de milliers de tonnes de métaux lourds chaque année, comme micro nutriments (Zn, Mn, Fe, Cu, Mo) principalement, dans les fertilisants phosphatés (Zn, Cd, Cu, Ni, Pb, Cr), ou composants des pesticides (Cu, As, Pb, Hg, Zn).

D'autres causes importantes de pollution des eaux par les métaux lourds sont : l'épandage des boues résiduelles de stations d'épuration des fluents domestiques ou industriels, et les phénomènes de corrosion (**Thornton, 1981**).

3. La pollution en Méditerranée occidentale :

Le littoral de la Méditerranée occidentale est en industrialisation constante. Il devient le siège d'une pollution inquiétante pour les ressources futures et pour la santé du consommateur de produits marins. Egalement, il a été signalé que la pollution par les métaux et les hydrocarbures présente des dangers certains pour la Méditerranée à court et long terme (**Donnier, 2007**).

A de fortes concentrations le polluant peut atteindre directement les espèces. Notamment à des concentrations sublétales, certaines substances, tels que les métaux lourds, les pesticides et les hydrocarbures sont accumulés par les organismes et concentrés à différents niveaux des chaînes alimentaires. Tandis que, des très faibles concentrations n'altèrent pas la productivité des espèces et persiste qu'à long terme.

Chez autant d'espèce l'apport nutritif et la reproduction sont menacés par des composés chimiques projetés dans le milieu, ces derniers sont contrôlés. Cependant, la présence de polluants peut bloquer leur synthèse ou l'empêcher totalement (**Donnier, 2007**).

4. La pollution des eaux marines en Algérie :

Les apports terrestres de polluants sont importants. Le volume des eaux usées non traitées (eaux usées des populations urbaines, pôles industriels) qui arrive dans les enceintes et les rades portuaires est estimé à 1 million de m³ /jour. Les flux de pollution vers les ports révèlent des charges importantes de 88.000 t/an (demande biologique d'Oxygène dans 5 jours) et de 186.000 t/an de (demande chimique d'oxygène). En ce qui concerne la pollution par les métaux lourds, 5 ports dépassent les normes pour le mercure, 3 pour le plomb, 4 pour le cuivre, 4 pour le zinc et 1 pour le chrome. Pour les hydrocarbures totaux (HCT), la quasi-totalité des grands ports présentent des pics qui dépassent de loin les normes de référence (**Donnier, 2007**).

Enfin, 5 ports dépassent la valeur limite pour la pollution microbienne (>100.000 E. coli/100 ml). En dehors des zones portuaires, de nombreux sites sont interdits à la baignade en raison d'une mauvaise qualité bactérienne. Concernant les surfaces d'eaux 135 plages sont interdites de baignade sur 409 plages ayant fait l'objet d'analyses en 1996 (**Mate, 2002**).

La croissance démographique et sa surexploitation des ressources naturelles, a contribué d'une façon directe ou indirecte à l'intensification de la pollution qui constitue un problème de l'hygiène du milieu et de la santé humaine. En effet, la pollution engendre d'une part une diminution des ressources naturelles et d'autre part elle entraîne des perturbations au niveau

des compartiments abiotiques fondamentaux des milieux (atmosphère, sol, eau) (**Donnier, 2007**).

II. LES METAUX LOURDS

Un métal est une matière issue le plus souvent d'un minéral ou d'un autre métal, dotée d'un éclat particulier. On exprime par l'appellation éléments en traces métalliques « ETM » leur présence minime. Généralement, ce sont des éléments métalliques naturels, ou dans certains cas métalloïdes caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5g/cm^3 (**Miquel, 2001**). Présentant les caractéristiques physico-chimiques suivant : des bons conducteurs de chaleur et d'électricité, d'une dureté et de malléabilité précise. Ils se combinent ainsi, aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie, l'orfèvrerie...etc. Principalement, le plus important de ces caractéristiques est de former des composés pratiquement insolubles avec les sulfures dans des conditions de pH légèrement acide (**Crine, 1993**). Généralement, Ils sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en quantités très faibles.

Bien que nécessaire en faibles quantités à l'équilibre des systèmes vitaux, ils peuvent devenir toxiques pour les organismes vivants lors de leur accumulation. Les plus couramment cités sont : arsenic, argent, bore, cadmium, cobalt, chrome, cuivre, fluor, mercure, manganèse, nickel, plomb, étain, vanadium et le zinc (**Adriano, 1986**). Ces éléments sont répartis en éléments essentiels et non essentiels

1. Les types des métaux lourds :

1.1 Les métaux non essentiels ou métaux toxiques

Cette catégorie ne possède aucun intérêt biologique pour les organismes vivants. Ils s'avèrent toxiques à toute dose ingérée même à des doses minimales (plomb, mercure, cadmium...etc.). En raison de leur densité élevée sont également appelés "métaux lourds". Il s'agit notamment du plomb, du cadmium du mercure du nickel et d'autres.

1.2 Les métaux essentiels ou oligoéléments

Présentant tous les éléments impliqués dans les processus biologiques tel que le zinc, cuivre, fer, magnésium, et le sélénium. Ces éléments rentrent dans les réactions biochimiques de la matière vivante et ont ainsi un rôle nutritionnel (**Regoli et al., 1998**). Souvent, ils sont liés à des protéines. Exemple : le fer contenu dans l'hémoglobine des vertébrés et le cuivre contenu dans la structure de l'hémolymphe des invertébrés. Citant aussi, le Magnésium (Mg) présent dans la chlorophylle (**Cotzias, 1967**).

- Ils sont présents dans les tissus vivants à une concentration relativement constante ;

- Ils provoquent par leur absence de l'organisme, des anomalies structurelles et physiologiques voisines chez plusieurs espèces ;
- On peut prévenir ou guérir ces troubles par l'apport de ce seuil d'élément.

2. Distribution des ETM dans les sols :

Les formes chimiques des éléments en traces (spéciation), leurs interactions et associations avec les différents constituants du sol (argiles, oxy-hydroxydes, carbonates, phosphates et matières organiques) conditionnent leur biodisponibilité pour les végétaux ainsi que pour les animaux. Leur mobilité est assurée par le transfert dans les solutions du sol (**Legret *et al.*, 1988**).

3. Différents formes métalliques dans les eaux :

Les métaux lourds font partie des substances polluantes minérales, qui ne sont pas biodégradables. Ils sont même souvent la cause de défaillance des systèmes d'épuration biologique, destinés à diminuer la pollution organique. Deux types d'effluents peuvent être distingués : Les eaux de procédés et les eaux usées (**Crine, 1993**).

- Les eaux de traitement de surface contiennent en général un nombre limité de métaux, mais à des teneurs élevées (plusieurs g/l).
 - La composition des eaux usées est beaucoup plus complexe et variable dans le temps. La présence de matières organiques interférant avec les métaux lourds peut rendre leur élimination plus difficile.
- Egalement, les métaux se trouvent dans les eaux sous les formes, colloïdale, soluble et en suspension (**Dore, 1989**).

4. Mobilité et biodisponibilité des métaux lourds :

La toxicité d'un métal dépend de sa spéciation (forme chimique) et des facteurs environnementaux. Dans le sol, les métaux lourds peuvent exister sous forme d'ion libre ou sous forme liée à des particules du sol. Cependant, un métal n'est toxique pour les organismes vivants que s'il est sous forme libre, il est alors bio disponible. Comme tout élément chargé positivement, les cations métalliques peuvent interagir avec toute particule organique ou minérale chargée négativement. L'équilibre entre les formes libres et fixées de l'ion va dépendre de sa biodisponibilité directement liée à sa toxicité. Enfin, la biodisponibilité des métaux lourds varie en fonction de plusieurs facteurs. Parmi lesquels citant, la capacité d'échange de cations (CEC), le pH, le potentiel redox (Eh), la teneur en phosphate disponible, la teneur en matière organique et les activités biologiques (**Babich *et al.*, 1996**).

5. Cycle biogéochimique des métaux lourds dans le milieu marin :

Le déroulement du cycle biogéochimique semble s'effectuer en deux grandes étapes. Une première consisterait en un piégeage des polluants métalliques par des particules en suspension, la biomasse marine et le sédiment en fonction des conditions physico-chimiques du milieu marin et cela par :

5.1 Précipitation : Phénomène qui s'opère lorsque le polluant métallique en solution chute par gravitation au fond du milieu marin. Cependant, en eau profonde, certains métaux pourraient retourner en solution bien avant d'atteindre le fond.

5.2 Absorption : C'est le passage du polluant métallique dans un organisme marin.

5.3 Adsorption : Phénomène qui a lieu quand les molécules ou les ions métalliques se fixent à la surface des composantes marines (particules, organismes marins, sédiments).

5.4 Sédimentation : Phénomène qui s'effectue lorsque les ions métalliques se superposent formant ainsi des couches sédimentées. Les animaux benthiques participent à l'accélération du dépôt des particules et leurs métaux associés en les consolidant dans des matières fécales. Ainsi, les animaux benthiques participent à la sédimentation du milieu marin (**Ramade, 1992**).

Une deuxième étape, inverse à la première, consisterait en un élagage de ces polluants par désorption ou sorption, qui est le phénomène inverse à l'adsorption, par diffusion ou propagation dans le milieu marin par dissolution des produits précipités. Ainsi, la décomposition et déminéralisation des matières organiques. Parfois, par le biais des organismes marins distribués (**Ramade, 1992**).

6. Toxicité

Chez l'Homme se manifeste par des nausées, des vomissements, une rigidité musculaire et une irritation des muqueuses. Tandis que chez les mollusques, il a été démontré qu'une contamination par les métaux lourds peut affecter la croissance, la consommation de l'oxygène et la reproduction (**Viarengo, 1989**). Néanmoins, peu de travaux ont été réalisés sur l'effet d'une contamination métallique au niveau cellulaire.

6.1 Effet sur la membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique représente la première barrière pour les métaux au niveau de la cellule. Il a été démontré qu'en se liant aux protéines cytoplasmiques et aux phospholipides, les métaux engendrent une altération de leurs structures ainsi que de leurs

fonctions (**Evtouchenko et al., 1986**). L'un des effets le plus important des cations métalliques tel que le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le mercure (Hg) et l'argent (Ag) est l'inhibition de l'activité des ATPases Na-K dépendantes (**Bouquegneau et al., 1979**). Les métaux lourds peuvent aussi altérer la structure de la membrane cellulaire en stimulant par exemple la peroxydation lipidique et en épuisant le contenu cellulaire en glutathion(GSH) nécessaire pour la protection contre le stress oxydatif (**Dianzani et al., 1978**).

6.2 Effet sur le noyau

Une fois trouvés dans la cellule, les métaux vont rapidement s'accumuler dans le noyau (**Bryan et al., 1976**). A ce niveau, ils vont stimuler la synthèse d'ARNm codant pour les métallothionéines (MTs), inhiber l'activité de l'ARN polymérase I et II responsables de la synthèse de l'ARNr et l'ARNm respectivement, altérer la structure et le métabolisme de l'ADN et causer des anomalies au niveau des chromosomes (**Viarengo et al., 1982**).

6.3 Effet sur le système vacuolaire lysosomale

L'exposition au Cu ou au Cd engendre une déstabilisation au niveau des membranes des lysosomes, organites cellulaires assurant le catabolisme des macromolécules, suivi d'une augmentation du catabolisme protéique (**Glaumann et al., 1987**). En effet, il a été démontré qu'une contamination des moules par le cuivre engendre une activation des enzymes lysosomales protéolytiques chez les mytilidés au niveau de la glande digestive (**Viarengo, 1989**). Il semble donc qu'une exposition des invertébrés à de faibles concentrations de métaux lourds a pour conséquence le catabolisme des macromolécules telles que les protéines. Ce qui peut être confirmé par l'augmentation de l'activité du β -glucuronidase au niveau des cellules de la glande digestive des moules contaminées par le cuivre. Cependant une contamination par des concentrations importantes de métaux peut amener à une inhibition des protéases lysosomales et par conséquent une augmentation de la demi-vie des protéines peut être observée (**Moore et al., 1989**). Généralement, les métaux lourds altèrent la physiologie de ces organites en déstabilisant les membranes des lysosomes primaires et secondaires et en augmentant le taux d'activité des lysosomes. Aussi, en bloquant l'activité des enzymes hydrolytiques et en inhibant le catabolisme cellulaire, lorsque les concentrations en métaux sont élevées (**Viarengo, 1989**).

6.4 Effets sur les mitochondries

La capacité des mitochondries à accumuler les métaux lourds a été démontrée par **George (1972)**. Cette accumulation a pour conséquence la perturbation de la fonction mitochondriale en altérant les membranes mitochondriales par la voie de la peroxydation

lipidique et en augmentant la perméabilité aux polypeptides ce qui entraîne une perturbation au niveau du gradient protonique responsable de la synthèse d'ATP (**Viarengo, 1989**). Les métaux peuvent agir également, sur l'activité des enzymes mitochondriales tel que l'inhibition d'isocitrate dehydrogenase nécessaire pour la synthèse de l'ATP (**Viarengo, 1989**).

6.5 Effet sur le réticulum endoplasmique

Il a été démontré que les métaux lourds altèrent la distribution des ribosomes entre le cytosol et le réticulum endoplasmique. Au niveau des cellules saines, très peu de ribosomes libres sont présents dans le cytosol, la plupart se présentent sous la forme de polyribosomes ou attachés au réticulum endoplasmique (**Viarengo, 1989**). Une exposition au cadmium provoque une augmentation du nombre des ribosomes libres et une diminution du nombre des polyribosomes ce qui amène à une diminution de la synthèse protéique. Ces éléments affectent, également les activités enzymatiques du réticulum endoplasmique. Parmi ces enzymes on peut citer la phosphatase alcaline, les oxygénases et la Benz pyrène hydroxylase (**Viarengo, 1989**).

7. Le bio indicateur de pollution

Par définition le bio indicateur est une espèce vivante qui, par sa présence, son absence ou sa rareté, permet d'évaluer la qualité de l'environnement. C'est le principe des « bio indicateurs quantitatifs » basé sur le fait que les organismes marins concentrent les contaminants, en particulier les métaux lourds, en relation avec les concentrations présentes dans le milieu. (**Casas, 2005**) Les céphalopodes sont de très bons indicateurs de pollution pour les eaux côtière, ils sont connus pour leur faculté à accumuler les polluants. (**Danis, 2005**) Les glandes digestives ou hépatopancréas (l'Homme ne la consomme généralement pas) sont un site majeur de stockage pour ces éléments. Les céphalopodes sont une source importante de cadmium pour les mammifères marins et les oiseaux qui les consomment. Les taux mesurés dans ces organes sont supérieurs à ceux mesurés dans la chair. (**Bustamente, 1998**).

III. LES MOLLUSQUES

1. Généralités :

Les mollusques appartiennent à l'embranchement le plus ancien et le plus varié du monde animal, il comprend plus de 100.000 espèces vivantes, présentant des caractéristiques communes particulièrement visibles au cours du développement embryonnaire. Ce sont des animaux au corps mou, souvent protégés par une coquille calcaire ou un « os ». Ces espèces possèdent un pied musculueux et une couverture de peau appelée le manteau.

L'embranchement des mollusques comprend les classes suivantes :

- ✓ Gastéropodes
- ✓ Céphalopode
- ✓ Polyplacophores
- ✓ Scaphopodes
- ✓ Aplacophores
- ✓ Monoplacophores
- ✓ Solénogastres
- ✓ Bivalves ou Lamellibranches

1.1 Physiologie des espèces

1.1.1 Alimentation :

La nourriture des mollusques est très variée selon leur mode de vie et leur habitat. Donnant comme exemple : les escargots terrestres sont herbivores, contrairement à certain autres qui colonisent les eaux marines et qui sont des carnivores. Aussi, les bigorneaux qui se nourrissent des algues marines.

1.1.2 Reproduction :

Les mollusques se reproduisent par le mode sexuée. Généralement les sexes sont séparés mais parfois de déssexualisation hermaphrodite, surtout chez les gastéropodes. La fécondation chez les bivalves est externe. Tandis que, pour d'autres elle est interne.

2. les bivalves :

Les bivalves sont des mollusques d'eau douce et d'eau de mer, nommée également les pélecypodes ou les lamellibranches. Le nombre total d'espèces appartenant à cette classe est environ 9 200 jusqu'aujourd'hui. Ces espèces sont classées dans 106 familles et 1 260 genres. Les bivalves marins (compris ceux des eaux saumâtres et les espèces estuariennes) représentent environ 8 000 espèces, incluses dans quatre sous-classes et 99 familles comprenant 1 100 genres. Les plus grandes familles de bivalves marins modernes sont les Veneridae, avec plus de 680 espèces, les Tellinidae et les Lucinidae, chacune de ces deux dernières familles comprenant plus de 500 espèces. Les bivalves d'eau douce comprennent sept familles, dont la plus importante est celle des Unionidae qui renferme environ 700 espèces.

Le corps des bivalves est aplati latéralement, recouvert d'une coquille constituée de deux parties distinctes et plus ou moins symétriques. Les valves sont reliées l'une à l'autre par des ligaments. Ainsi, permettant de s'ouvrir et de se refermer. Leurs corps sont dépourvus de tête. Outre, cette masse corporelle est munie de branchies, appelées « Cténidies », impliqué dans la respiration. Donc, elles captent les substances nutritives en suspension dans l'eau, car la majorité se nourrit en filtrant l'eau. La plupart des bivalves s'enfouissent dans les sédiments des fonds marins, où ils sont à l'abri des prédateurs. D'autres vivent sur le fond marin, ou se fixent sur des rochers ou autres surfaces dures. Quelques-uns peuvent percer des éléments en bois, en argile ou en pierre pour vivre à l'intérieur de ces matériaux. Enfin, certains bivalves comme les pétoncles peuvent nager.

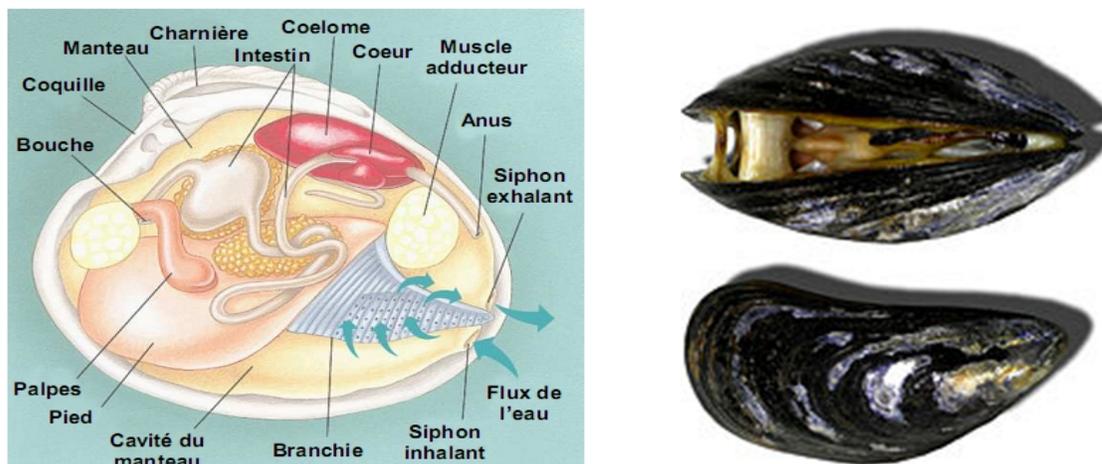


Figure 1 : Anatomie générale d'un mollusque bivalves (Moyes et Schulte, 2007)

3. L'espèce *Donax trunculus*

3.1 Description morphologique :

Le *Donax trunculus* est un bivalve filtreur qui vit enfoui dans le sable. Sa coquille est solide de forme triangulaire. Chaque valve de cette coquille possède deux dents au niveau de la charnière et d'autres petites tout le long du bord latéral. La face externe de la coquille est marquée par des stries de croissance concentriques plus sombres. La couleur du péri ostracum varie du jaune clair au jaune foncé. La couleur interne des valves varie du blanc au violacé. Deux muscles adducteurs permettent au mollusque de maintenir ses valves fermées. Le pied est comprimé latéralement, fort et puissant. Deux siphons courts, lui permettent de filtrer l'eau. Un sinus palléal est profond et rejoint la ligne palléale. La taille de la telline varie de 25 à 35 mm, certains spécimens peuvent mesurer près de 5 cm

3.2 Anatomie :

L'espèce *D. trunculus* présente un corps mou enveloppé par un manteau sans segmentation comprimé latéralement. Dépourvu de tête distincte (acéphale). Constitué de deux lobes qui sécrètent et supportent chacune des valves de la coquille. Les bords externes du manteau sont parfois plus au moins soudés, formant vers l'arrière deux siphon permettant l'entrée de l'eau (siphon inhalant ou ventral) ou son rejet vers l'extérieur (siphon exhalant ou dorsal). Les branchies sont de type eulamellibranche (**Mouëza, 1971**). Le pied, organe musculueux ventral et turgescents, constitue un solide point d'encrage pour l'animal. Le fouissage ou la locomotion sont également assurés par le pied (**Fisher et al., 1987**) (**Fig. 2**).



Figure 2 : Anatomie interne de *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758)

3.3 Classification :

La classification repose sur des critères anatomiques discriminant les grands axes taxonomiques, auxquels s'ajoute la distribution géographique. La forte plasticité morphologique de ces animaux (forme et couleur de la coquille), la charnière et la structure des branchies déterminent sa classification (**Humbert, 1962**).

Embranchement	Mollusca
Classe	Bivalvia
Sous-classe	Heterodonta
Super-ordre	Veneroida
Ordre	Tellinoida
Famille	Donacidae
Genre	<i>trunculus</i>
Espèce	<i>Donax trunculus</i> (Linnaeus, 1758)

3.4 Ecologie et biologie de l'espèce :

L'aire de distribution de *D. trunculus* comprend la mer Méditerranée et la partie Nord-Est de l'Atlantique entre la France et le Sénégal. En Atlantique, ce bivalve occupe essentiellement la partie intertidale des plages. Alors qu'en Méditerranée, il s'installe dans la partie superficielle de l'infralittoral (**Bayed, 1998; Amouroux, 1974; Salas, 1987**). Ce mollusque bivalve est un animal suspensivore, vivant dans les fonds sableux de granulométrie fine, dont la médiane est de 125 μm , et où l'hydrodynamisme est élevé. Le sédiment est soumis à de grandes variations de températures et de salinité, et bénéficie d'une oxygénation importante. *D. trunculus* est une espèce fouisseuse qui présente une grande capacité de résistance aux variations des facteurs physico-chimiques du milieu (dans la mesure où ces variations ne sont pas trop brutales) (**Gimenez, 1999**).

Cette espèce présente des sexes séparés, qui peuvent se distinguer par la couleur de la gonade se trouvant au-dessus du pied (**Lucas, 1965**) et ceci durant la période d'activité sexuelle. Les mâles présentent une gonade blanche ou jaunâtre à produits sexuels blancs et visqueux, alors que les femelles montrent une gonade d'un bleu intense à produits sexuels bleus et granuleux (**Lucas, 1965 ; Mouëza et al., 1973**). La fécondation est externe, les gamètes sont expulsées à travers le siphon exhalant.

Le cycle de reproduction présente d'importantes variations en fonction de l'altitude ; il présente une période de repos durant l'automne et l'hiver, et une période d'activité qui débute en hiver et qui se termine en été. D'après (**Mouëza ,1971**), la période de repos de cette espèce sur la côte algéroise s'étale de Novembre à Janvier inclus ; quant à la période d'activité, elle est comprise entre Février et Septembre. Au mois de Février, l'activité s'installe plus au moins tôt, ensuite il se produit une augmentation progressive et continue de la population sexuée jusqu'en août (sexualisation maximale, 96 % de la population). En septembre, il se produit une chute brutale du pourcentage des individus sexués (15%). La période de ponte se déroule en été, en même temps que la gamétogenèse, et prend fin en automne avec la régression des gonades (**Mouëza et al.,1973; Ansell et al.,1980**). .

Donax trunculus est un animal adapté à un fouissage rapide et peu profond en milieu sableux plus au moins agité (**Degioanni et al., 1972**). Là où l'hydrodynamisme favorise la présence des particules en suspension. Empêchant la sédimentation rapide de la matière organique. Il se nourrit de la matière organique en suspension dans l'eau (**Mouëza et al., 1976 ; Wade, 1964**). Il absorbe les particules fines en suspension (suspensivore) ou récolte celles déposées sur le sédiment grâce à son siphon allongé (dépositivore). Il assure ces échanges avec le milieu, par une circulation constante d'eau à travers la cavité palléale, l'eau véhiculant la nourriture et l'oxygène. C'est ainsi, que les principales fonctions (nutrition, respiration et excrétion) dépendent de l'importance du courant et des caractéristiques de l'eau qui traverse le coquillage. La respiration, déterminée par la teneur en oxygène de l'eau, doit être régulièrement assurée, d'autant que cette espèce est fouisseuse. Ce taxon connaît peu de prédateurs et de parasites, et possède une faune associée assez pauvre : nacres, coques et autre espèces de Tellines (**Gimenez, 1999**).

3.5 Reproduction :

L'espèce se reproduit à l'âge d'un an environ lorsqu'il atteint 1 cm de longueur. Il achève sa maturité sexuelle par son deuxième été / printemps (**Deval, 2009**). Le développement gamétogénique de *D. trunculus* peut se produire dès Mars, mais vient habituellement plus tard. Ainsi que, la ponte début d'Avril jusqu'à Juillet, avec un pic en Mai et Juin. A ce moment et jusqu'à Novembre, l'espèce entre dans une période de repos où la gonade ne peut être distinguée (**Deval, 2009**).

3.6 Cycle de vie :

Le *D. trunculus* commence son cycle de vie par un stade larvaire, au cours de la période de recrutement dès la fin de l'été jusqu'au début de l'automne. Pendant les deux trois premiers mois de sa vie. Il est en progression de 50% de sa coquille (**Neuberger et al., 1989**). Le poids corporel varie généralement au cours de l'année, selon le stade actuel du cycle de reproduction. Par exemple, le poids du corps peut augmenter de Novembre à

Février en préparation de la gamétogenèse, puis rester stables jusqu'à Juillet pendant que l'ovocyte mûrit. Après la ponte et durant l'été, le poids commence à décliner et reste inférieure jusqu'à Novembre (Neuberger *et al.*, 1989).

L'espèce subit des changements biochimiques qui sont liés à son cycle reproducteur. Concernant la teneur en lipides qui augmente avec la maturité sexuelle. Tandis que, la teneur en glucides est le plus élevé à l'automne, puis diminue à un minimum autour d'Avril durant à Mai (Ansell, 1980). Afin d'achever son cycle de vie, il se prépare à se mourir après une durée de vie maximale estimée de 6 ans. Généralement, pas plus de quatre ans en moyenne (Deval, 2009).

3.7 Habitat :

Les individus s'enfouissent grâce à leur pied puissant et à la forme compressée de ses valves qui lui permettent de s'enfouir très rapidement dans le sédiment et de s'y maintenir solidement au substrat. A cette raison, on la retrouve sur les plages à sable fin, entre 0 et 2 m de profondeur en Méditerranée, et 0 et 5 m de profondeur en Atlantique. Ajoutant que, cet individu apprécie la zone de déferlement des vagues où l'hydrodynamisme est fort, bénéficiant ainsi, d'une bonne oxygénation. Cependant, une résistance importante aux variations de salinité et de température a été révélée chez ces organismes. En revanche, ils n'apprécient pas l'eau trop fraîche inférieure à 10 °C. Un environnement favorable rassemble souvent plusieurs populations.



Figure 3 : carte géographique montrant la présence de l'espèce *Donax trunculus* à l'échelle mondiale.

3.8 Statut de conservation :

D. trunculus est explorée dans le commerce en Espagne et en Italie, mais à cause de sa grande population naturelle, elle est capable de résister aux impacts de cette activité (**Ramon et al., 1999**). Cependant, une menace naturelle pour les espèces qui pourraient éventuellement déstabiliser les populations est le trématode *Bacciger bacciger*. Ce parasite s'enfonce dans le tissu des gonades de *D. trunculus* et conduit à la castration et le manque de différenciation sexuelle physique éventuellement (**Ramon et al., 1999**).

3.9 Pertinence pour l'Homme et les écosystèmes :

L'espèce est présentée comme un bio-indicateurs qui accumule les métaux lourds tel que : Cd, Cu, Fe, Mn et Zn, d'où reviens l'intérêt de l'espèce. Cette capacité peut être efficace pour détecter et prévenir la contamination de l'eau (**Roméo et al., 1988**). En tant que cette espèce est largement commercialisée et sommée dans plusieurs pays (**Ramon et al., 1999**). Beaucoup de chercheurs ont visé sont l'intérêt.

3.10 Techniques d'échantillonnage

La méthode d'échantillonnage de tellines diffère selon que la pêche est artisanale ou professionnelle. Les pêcheurs d'haricot de mer de la baie d'Annaba pratique une pêche artisanale; ils utilisent un râteau à main appelé « cope » cette dernière se compose de 4 parties essentielles: un large manche en bois (qui varie selon la taille de l'utilisateur), une poche réceptrice en arrière du râteau sous forme de sac en grillage, une tôle dentée soudée à l'armature métallique qui racle le fond et un câble d'acier fixé à la tôle. L'orientation est conduite par une seule personne à une profondeur qui varie de 0,5 à 1,5 m. Cependant, pour la pêche professionnel une drague à tellines utilisée. Elle est constituée de grilles (tamis pour retenir les coquillages), un volet pour stocker les haricots de mer, un dispositif mécanique qui permet d'ajuster la profondeur de pénétration de la lame selon les conditions du milieu. La drague tractée à reculons par le pêcheur équipé d'un harnais, est utilisée à basse mer dans quelques dizaines de centimètres d'eau (**Braia et al., 2009**).

IV. STRESS OXYDANT :

1. Le stress oxydant :

1.1 Définition :

Le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (**Durackova, 2008**) et à des dégâts cellulaires irréversibles (**Abuja et al., 2001 ; Pincemail et al., 1999**).

1.2 Origine du stress oxydant :

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro- oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de RL, un état de « stress oxydant » est signalé (**Favier, 2003**).

2. Les radicaux libres

2.1 Définition :

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques indépendantes (**Kehrer, 1993**), d'où l'existence de ces dernier est douée d'une réactivité qui impose la notion des espèces réactives de l'oxygène (ROS) pour désigner l'ensemble des entité contenant un ou plus d'atomes d'oxygène qui leur confère un critère défini d'être chimiquement réactif (**Baskin, 1994 ; Kehrer, 1993 ; Delattre, 2005; Durackova, 2008**). En toxicologie, ces espèces réactives sont ceux qui se trouvent dans un état libre et capables d'interagir avec différents composés tissulaires (**Kehrer, 1993**). Outre, un oxydant en raison de son haute réactivité qui lui permet de gagner un électron à partir d'autres composés en causant leur oxydation (**Durackova, 2008**).

2.2 Distinction des radicaux libres :

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes (**Favier, 2003**) :

- ✓ Les radicaux primaires, qui constituent un ensemble limité de composés radicalaires et dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion super oxyde $O_2^{\circ-}$ et le radical hydroxyle $\cdot OH$, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} , Ils jouent un rôle particulier en physiologie. Cependant, le radical per

hydroxyle $^{\circ}\text{HO}$, le radical peroxyde ROO° et le radical alkoxyde RO° sont aussi dangereux (**Darley *et al.*, 1995**).

- ✓ Les radicaux secondaires, se forment par réaction des radicaux primaires au niveau des composés biochimiques de la cellule.
- ✓ D'autres espèces dérivées de l'oxygène, dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singlet $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 ou le nitroperoxyde ONOOH , ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de certains radicaux et notamment, aussi le peroxyde ONOO° (**Delattre, 2005**).

2.3 Origine des radicaux libres :

Les radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. Effectivement, certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux (**Halliwell, 2000**). Les principales sources sont d'origine endogènes et exogène (**Halliwell, 2006 ; Durackova, 2008 ; Rees *et al.*, 2008**).

2.3.1 Sources exogènes :

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminants métalliques ou certaines carences nutritionnelles (**Priyadarsini, 2000**).

2.3.2 Sources endogènes :

Les radicaux libres (RL) sont produites principalement de manière endogène au niveau des membranes des mitochondries, au cours du transfert d'électrons le long de la chaîne respiratoire (**Livingstone, 2001 ; Staniek *et al.*, 2000**). Les réactions radicalaires jouent un rôle important dans les systèmes biologiques car elles interviennent dans des réactions métaboliques et physiologiques normales et indispensables à la vie, comme dans la production d'énergie (**Betteridge, 2000**). Les radicaux libres sont aussi impliquées dans le processus de mort cellulaire programmée (ou apoptose) (**Matès, 2000**).

1. LES ANTIOXYDANTS :

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des radicaux libres. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme d'antioxydant.

1.1 Définition :

Les antioxydants sont toutes substances présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, Ils retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (**Abuja *et al.*, 2001**), et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne demeurent pas la réaction radicalaire (**Durackova, 2008**).

3.2 Caractéristiques des antioxydants :

Un composé considéré un antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes (**Ursini, 1999 ; Durackova, 2008**) :

- Il réagis avec les métabolites réactifs de l'oxygène qui sont biologiquement toxiques.
- Le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme que le métabolite éliminé.
- L'antioxydant potentiel doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante
- La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

Les antioxydants peuvent jouer leur rôle à différents niveaux du processus oxydatif (**Baskin *et al.*, 1994**) en:

- ✓ Neutralisant les radicaux initiateurs ;
- ✓ Liant les ions métalliques ;
- ✓ Neutralisant les radicaux peroxydes ;
- ✓ Eliminant les biomolécules endommagées par oxydation, ainsi que d'autres types de réactions.

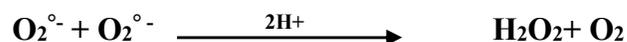
3.3 Classification des systèmes antioxydants :

Les systèmes antioxydants sont de deux types.

3.3.1 Les antioxydants enzymatiques :

3.3.1.1 Superoxydes Dismutases (SODs) :

Une famille de molécules de nature métalloprotéine, plusieurs formes diffèrent par l'existence d'un genre de métal contenu dans le site actif de ces métalloprotéines et leur localisation cellulaire (**Hermes *et al.*, 2005**). Les superoxydes dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) en produisant une molécule d'oxygène O_2 et une molécule de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 selon la réaction suivante:

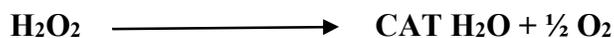


Il existe 3 iso formes de SOD en fonction du métal de transition présent dans le site actif :

- ✓ une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD).
- ✓ une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (Cu/Zn-SOD).
- ✓ La forme mitochondriale permet la dismutation quasi instantanée de l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) produit au niveau de la mitochondrie (**Mates *et al.*, 1999; Zelko *et al.*, 2002**).

3.3.1.2 La catalase :

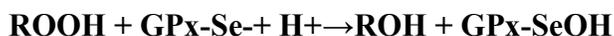
La catalase (CAT) est une hémoprotéine tétramérique, présente dans les hématies et les peroxysomes hépatiques, ayant pour cofacteur un atome de fer (**Sokolova *et al.*, 2001**). Elle réduit rapidement le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau et en oxygène moléculaire via la réaction :



3.3.1.3 Les glutathion peroxydases (GPx) :

Les glutathion peroxydases (GPx) est une enzyme tétramérique permettant également la décomposition du H_2O_2 . Elle joue un rôle principal dans l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'attaque des radicaux libres sur les acides gras polyinsaturés. Elle a besoin de la présence de glutathion réduit et du sélénium pour fonctionner régulièrement. La GPx produit H_2O_2 de manière continue et à des niveaux physiologiques dans la cellule (**Mills, 1957**).

La détermination de l'activité de cette enzyme est basée sur la réduction d'un hydroperoxyde (ROOH) en présence de glutathion réduit (GSH). Selon la réaction suivante :



3.3.2 Les antioxydants non enzymatiques :

Les principaux antioxydants non enzymatiques sont le glutathion, la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et l'acide urique. Ces molécules vont interrompre la chaîne de réaction radicalaire (**Cadenas, 1989**).

3.3.2.1 Le glutathion réduit (GSH) et oxydé (GSSG):

Le glutathion est un thiol non protéique, le plus abondant chez les organismes vivants (**Penninckx, 2000**). Dans les cellules, il est majoritairement présent à l'état réduit (GSH) qui est sa forme active.

Il est synthétisé in vivo par l'action conjuguée de deux enzymes : le glutamate cystéine ligase (GCL) et la glutathion synthétase (**Dringen, 2000**). Le glutathion agit comme un donneur d'électrons et permet ainsi la désactivation des ROS (**Deneke et al., 1989 ; Winterbourn et al., 1990 ; Kaplowitz et al., 1991**). Il est également le substrat des glutathion peroxydases et des glutathion transférases pour la réduction des peroxydes.

La cytotoxicité induite dans les cellules endothéliales par l'oxyde nitrique et/ou l'anion superoxyde peut être bloquée par le glutathion (**Cheung et al., 2002**). Il intervient aussi dans la conjugaison des substances électrophiles, catalysées par des glutathion transférases. A pH=7, le glutathion, sous sa forme anionique (GS⁻), inactive l'oxygène singulet (**Cadenas, 1989**). Une augmentation de la forme oxydée du glutathion (GSSG) traduit un stress oxydant (**Sies et al., 1998 ; Pocerlich et al., 2000**).

A l'exception de son activité antioxydante, le glutathion intervient dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que la réserve et le transport des cystéines, le transport des acides aminés, le métabolisme des prostaglandines, et la réduction de ribonucléotides en désoxyribonucléotides.

Dans les conditions normales, le glutathion sous sa forme réduite (GSH) représente entre 90 et 98% du glutathion total. A partir de sa forme oxydée GSSG, l'enzyme GSSG-réductase assure la conversion de ce dernier pour le maintien du (GSH). A raison de maintenir cet équilibre redox du rapport [GSH] / [GSSG] pourraient être un facteur modulant la sensibilité des cellules au stress oxydant (**Schafer et al., 2001**).

3.3.2.2 Vitamine E (tocophérol) :

La vitamine E regroupe la famille des tocophérols (alpha, bêta, gamma, delta) avec une activité anti-oxydante variable. L'alpha tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par le stress oxydant (elle capture le radical lipidique peroxyde LOO.) (**Khalil, 2002 ; Vertuani, 2004**).

3.3.2.3 Vitamine C (Acide ascorbique) :

La vitamine C (acide ascorbique) est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles, présent dans les fluides intra et extracellulaires. Ces activités biologiques viennent de son puissant potentiel réducteur, agit principalement en piégeant directement et très efficacement les radicaux superoxydes et hydroxyles, elle peut aussi recycler la vitamine E pour l'aider à prévenir l'oxydation des lipides (**Packer et al ., 1997; Evans, 2000**).

3.3.2.4 La malondialdéhyde (MDA) :

C'est un des produits finaux de la dégradation des acides gras. C'est un agent alkyle puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques. Le taux de MDA est proportionnel à l'augmentation de la peroxydation lipidique (**Aust et al ., 1985**). Plusieurs effets dus à la peroxydation lipidique, résultant de la dénaturation des acides gras polyinsaturés composant les biomembranes. Ainsi, lors d'un stress causé par l'introduction d'un polluant, lorsque les systèmes antioxydants deviennent inefficaces, à ce moment, les dommages cellulaires peuvent être estimés par le taux de MDA. De ce fait, il aura constitué un bon bio marqueur pour la mesure du stress oxydant.

3.4 . Dégâts et les biomarqueurs du stress oxydant :

3.4.1 Peroxydation lipidique :

Les lipides sont les premières cibles privilégiées de l'attaque radicalaire et principalement leurs acides gras polyinsaturés, qui sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation.

La première phase de cette peroxydation est la phase d'initiation qui implique l'attaque des espèces réactives surtout le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$), entraînant l'arrachement d'un hydrogène du l'acide gras (LH), ceci aboutit à la formation d'un radical diène conjugué, qui après addition avec l'oxygène moléculaire donne le radical peroxyde (LOO°).

Ensuite, ce radical peut réagir avec un autre acide gras polyinsaturé et former un hydro peroxyde (LOOH), c'est la phase « Propagation » de la peroxydation lipidique. Ces hydro peroxydes appartiennent à la famille des peroxydes lipidiques qui peuvent soit être réduits et neutralisés « phase de terminaison » par la glutathion peroxydase et la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (**Esterbauer *et al.*, 1992 ; Beaudoux *et al.*, 2003 ; Favier, 2003**) . Ou, continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires tel qu'en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messagers secondaires toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres.

Parmi ces aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le Malondialdéhyde (MDA), et le 4-hydroxynonéal (4-HNE), qui sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique, ces deux derniers produits (MDA et 4-HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (**Marnett, 1999**).

3.4.2 Oxydation des protéines :

Les protéines peuvent également être la cible des réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications, ces modifications provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans les protéines. Ces réactions d'oxydations, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} (**Levine, 2002**). Nous pouvons classer les réactions d'oxydations des protéines en deux catégories :

Effectivement, celles qui brisent et modifient les liaisons et les chaînes peptidiques respectivement. D'autre part, des modifications structurales au niveau des peptides se fait par l'addition des produits issus de la peroxydation lipidiques comme le 4-HNE. Ces changements conduisent généralement à une perte de la fonction catalytique, ou structurale des protéines affectées (**Levine, 2002**).

Les protéines comportant un pont sulfhydrique sont les plus sensibles aux attaques radicalaires, c'est le cas de nombreuses enzymes antioxydante et les protéines de transport, qui contiennent très souvent des groupements thiols (SH) (**Sen, 2001**). Les protéines modifiées par l'oxydation, vont être prises en charge par des protéines spécifiques dites protéines de stress Heat Shock Protein (HSP) connues pour leur rôle cytoprotecteur, où elles prennent en charge les protéines dénaturées et participent à la restauration de la fonction de ces protéines (**Welch, 1992**). Les HSP permettent à la cellule de répondre au stress de façon rapide, et la synthèse des HSP pourrait ainsi compléter les capacités de défenses antioxydante lorsque les protéines intracellulaires sont endommagées par les ROS (**Essig *et al.*, 1997**).

3.4.3 Dommages oxydatifs de l'ADN :

Il existe, au sein de la cellule 2 sorte d'ADN, l'ADN nucléaire et ADN mitochondrial. Ce dernier est la cible privilégiée des oxydations par les ROS, du fait sa proximité directe de l'une des principales sources de ROS cellulaires c'est la chaîne respiratoire mitochondriale (**Stevnsner, 2002**).

Les réactions d'oxydation de l'ADN engendrant un grand nombre de dommages de l'ADN et on peut noter quatre classes principales des dommages : les coupures simples et doubles brins, les bases modifiées comme la 8-OHdG (qui est un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN), les pontages ADN-ADN et les pontages ADN-protéines (**Hayakawa et al., 1991**).

Les bases puriques sont plus sensibles aux ROS (surtout l' $^{\circ}$ OH et le peroxydant), en particulier la guanine (base qui présente le potentiel d'oxydation le plus bas), qui est facilement transformée en 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OHdG) qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces systèmes sont défectueux, la 8-OHdG nom entier s'accumulera au sein de l'ADN (**Cadet, 1999**). Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique dont le MDA et le 4-HNE peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN (**Marnett, 1999 ; Nair et al., 1999**).

3.5 Pathologies liées au stress oxydant :

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à l'évolution des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (**Ferrari, 2001**). En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, maladie d'Alzheimer (**Favier, 2006**). Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des facteurs athérogènes : augmentation de la résistance à l'insuline, activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs pro-oxydants (cytokine, superoxyde, NO...etc.) (**Montagnier et al., 1998**). De nombreuses affections humaines ou animales incluent donc un stress oxydant, local ou général, dans leur pathogenèse au même titre que l'inflammation à laquelle il est souvent associé. Dans plusieurs maladies graves, le stress oxydant est le facteur déclenchant la maladie.



Chapitre n° 2 : partie pratique



I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

1.1 Choix de l'espèce :

Le matériel biologique utilisé dans cette expérimentation est un mollusque bivalve le *Donax trunculus*. Vu qu'il colonise fortement le golfe d'Annaba et est aussi considéré comme produit alimentaire important pour la population. A ces raisons, il a été préféré comme choix.

L'échantillonnage des individus a été effectué au mois de Décembre 2014 aléatoirement. Une fois récolté, les individus de l'haricot de mer sont ramenés vivants au laboratoire d'écophysiologie animale « Badji-Mokhtar » à Annaba. Portés dans des bacs en plastique contenant de l'eau de mer le jour même. Les dimensions choisies étaient entre 25 et 30 mm en moyenne.

1.2 Choix des sites :

Les sites choisis pour les prélèvements ont été sélectionnés le long du golfe d'Annaba.

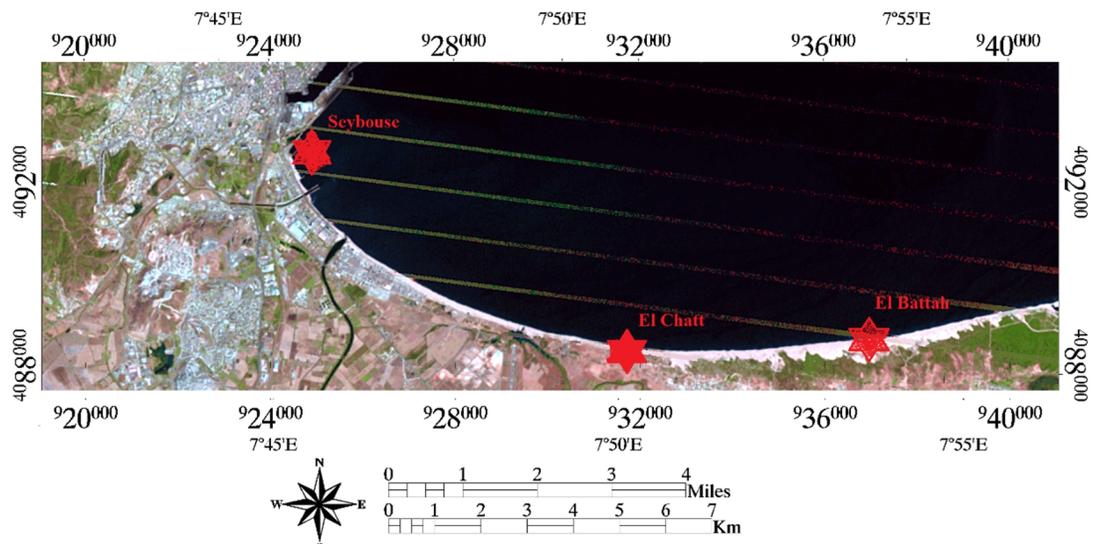


Figure 4 : Carte géographique de la côte d'Annaba, représentant les sites d'échantillonnages de l'espèce *Donax trunculus*.

1.2.1 Site 1 «El-Battah» :

Le site se trouve exactement à ($7^{\circ} 56' 35 64''$ E et $36^{\circ} 50' 52 60''$ N). D'où les apports de l'estuaire de l'oued Mafragh considéré comme un site non pollué dans la mesure où la pollution sous-entend les éventuels polluants situés en amont de l'oued et qui sont les agriculteurs occasionnels qui ne sont ni répertoriés (donc inscrits au registre de commerce), ni connus pour exercer une activité sédentaire çà et là et qui utilisent des fertilisants de manière anarchique .



Figure 5 : Le site1 El-Battah, il est plutôt sous l'influence directe des apports de l'estuaire du Mafrag. Il est considéré comme un site non pollué.

1.2.2 Site2 «El-Chatt» :

L'orientation géographique du site est ($7^{\circ} 49' 34 95''$ E et $36^{\circ} 50' 46 77''$ N). Là également, les apports de l'estuaire de l'oued Mafragh, oued non pollué, viennent se mêler aux charriages de l'oued Seybouse qui est pollué et dont les effets catastrophiques persistent tant que la station d'épuration localisée à Sidi Salem n'est pas opérationnelle .



Figure 6: le sites2 El-Chatt, il est soumis indirectement aux influences des décharges de l'Oued Seybouse; et Mafrag

1.2.3 Site3 «Seybouse» :

Le bassin de la Seybouse est situé dans la région Nord Est de l'Algérie et s'étend sur une superficie de 6471 et rejoint la Méditerranée près d'Annaba. Avec une longueur de 240 km, il couvre 68 communes dans sept wilayas : Annaba, Tarf, Skikda, Constantine, Oum El Bouaghi, Guelma et Souk Ahras. Des déchets urbains et industriels sont mêlés aux apports de l'Oued Seybouse polluant gravement les rejets vers la mer.



Figure 7: Le site 4 du Seybouse, il reçoit directement les apports urbains et industriels, en plus des apports d'Oued Seybouse. Il est fortement pollué.

2. Méthodes

2.1 Préparation de l'homogénat :

Un gramme de tissus corporel de l'échantillon *Donax trunculus* de différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours /min, 4°C, 15 min). Immédiatement, le surnageant obtenu est rassemblé dans des tubes eppendorfs puis conservés à 20°C, en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

2.2 Dosage des protéines :

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleu reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du bleu de Coomassie.
- Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/1ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (fig.).

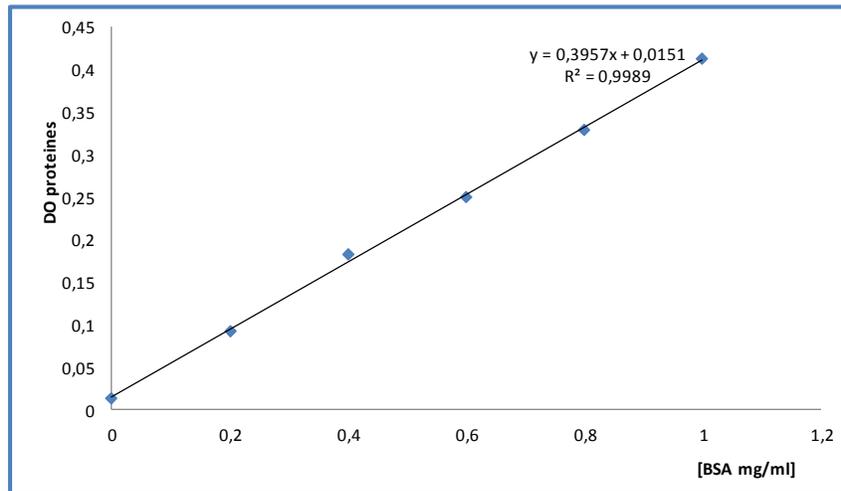


Figure 8 : Gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines

2.3 Dosage du glutathion :

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weekbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

- Prélever 0.8 ml de l'homogénat.
- 0.2 ml de la solution d'acide salicylique (0.25%).
- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0.5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml du tampon Tris, pH 9.6.
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M.

Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$GSH \text{ (nmolGSH/mgprotéine)} = \frac{D0 \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \text{ mgprotéine}}$$

D0 : Densité optique.

1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).

13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.

0.8 : Volume de l'homogénat.

0.5 : Volume du surnageant.

2.4 Dosage de malondialdéhyde (MDA) :

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide Thio barbiturique (TBA). La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipopéroxydation in vitro. Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'**Esterbauer et al. (1992)**.

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide Thio barbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

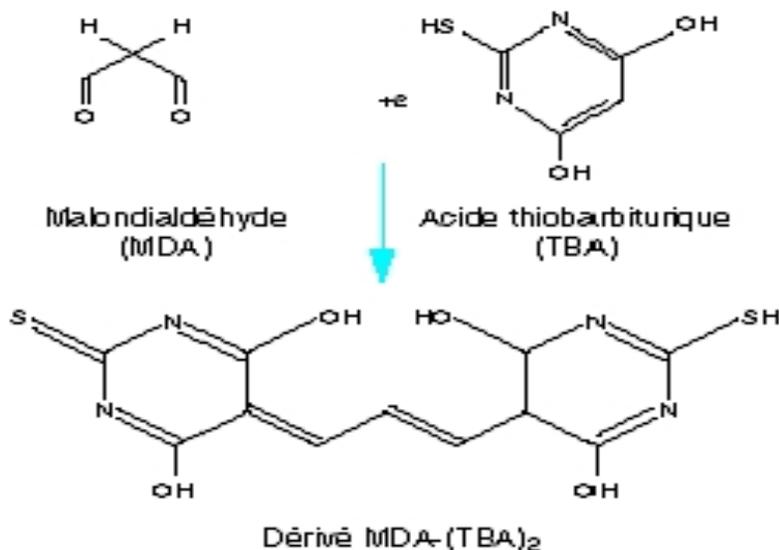


Figure 9 : Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide Thio barbiturique.

La procédure expérimentale du dosage, est la suivante :

- Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
- Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min.
- Prélever 400 µl du surnageant.
- Ajouter 80 µl du HCl 0.6 M.
- Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM).
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

La densité optique a été enregistrée à $\lambda = 530$ nm. L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

La concentration du MDA est calculée selon la loi de **Beer-Lambert**

$$C \text{ (nmol/mgprotéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot \chi \cdot Fd}$$

C : Concentration en nmoles/mg de protéines ;
DO : Densité optique lue à 530 nm ;
 ε : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;
 χ : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml) ;
Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

2.5 Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) :

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler(1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Pour cela que, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0.2ml de H_2O_2 (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0.48 ml du surnageant.
- Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM)
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

$$GPx (\mu\text{molGSH}/\text{mgprotéine}) = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0.04}{\text{DO étalon} \times \text{mgprotéine}}$$

DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.

DO étalon : Densité optique de l'étalon.

0.04 : Concentration de substrat (GSH).

3. Etude statistique

La comparaison entre les quinze effectifs de chaque site est effectuée après une analyse comparative avec le test T- Student (Minitab 13). Les résultats obtenus ($X \pm SD$) ont été démontré sur des histogrammes et des différences sont signalées comme suite :

- * Significative lorsque ($P \leq 0,05$).
- ** Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- *** Très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).
- P Seuil de signification.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats :

1.1 Glutathion réduit (GSH) :

D'après les résultats figurés sur figure 9, une diminution significative de ($p \leq 0.05$) du taux de glutathion réduit (GSH) au niveau du site d'El-Chatt a été mesurée pour une moyenne de 119,54 et une diminution hautement significative de ($p \leq 0.01$) signalée au niveau de Seybouse, estimée pour une moyenne de 117,95 en comparant ces deux derniers sites avec le site d'El-Battah qui est considéré comme site témoin. Aucune différence significative n'a été démontrée entre Seybouse et El-Chatt.

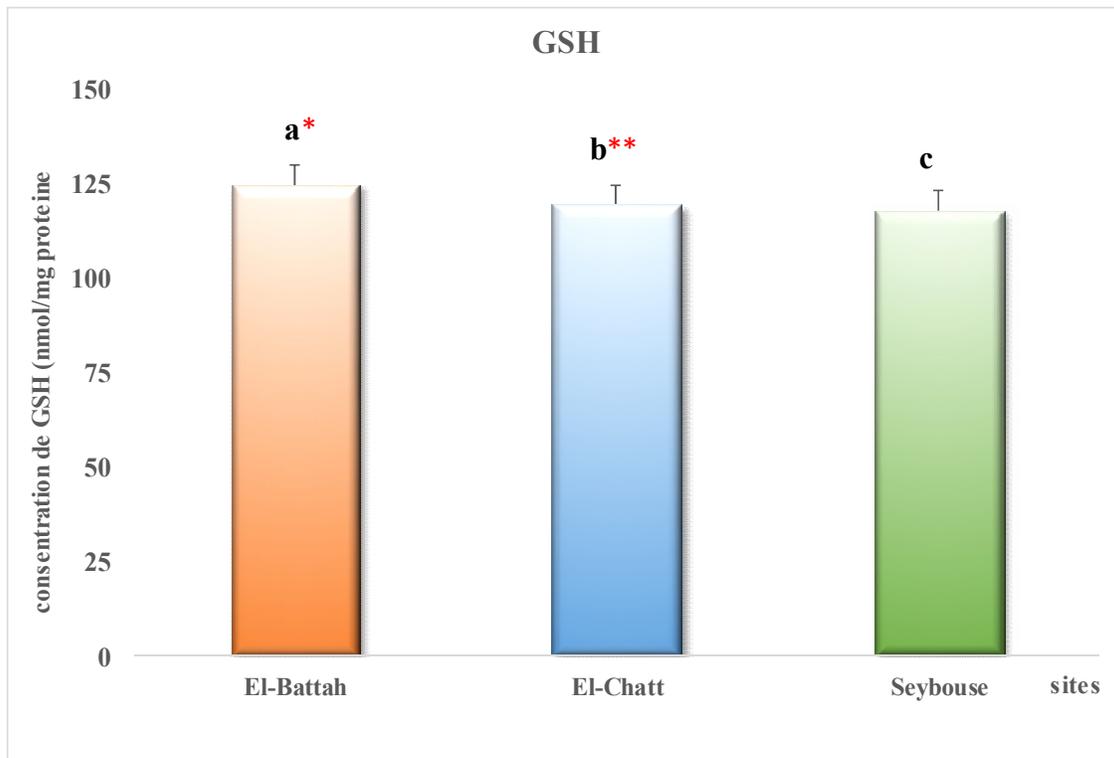


Figure 10 : Variation du taux du glutathion tissulaire réduit (GSH) (nmol/mg prot) chez le mollusque bivalve *Donax trunculus*.

a : site 1 x site 2

b : site 1x site 3

c : site 2x site 3

* Significative lorsque ($P \leq 0,05$) ;

** Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).

1.2 Malondialdéhyde (MDA) :

D'après les résultats obtenus et démontrés sur figure10 on observe une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du taux de MDA au niveau du site d'El-Chatt par rapport au témoin, En revanche, on n'enregistre une augmentation hautement significative de ($p \leq 0.01$) entre les sites Seybouse et le site témoin. Tandis qu'aucune différence significative a été constatée entre les des deux sites El- Chatt et Seybouse.

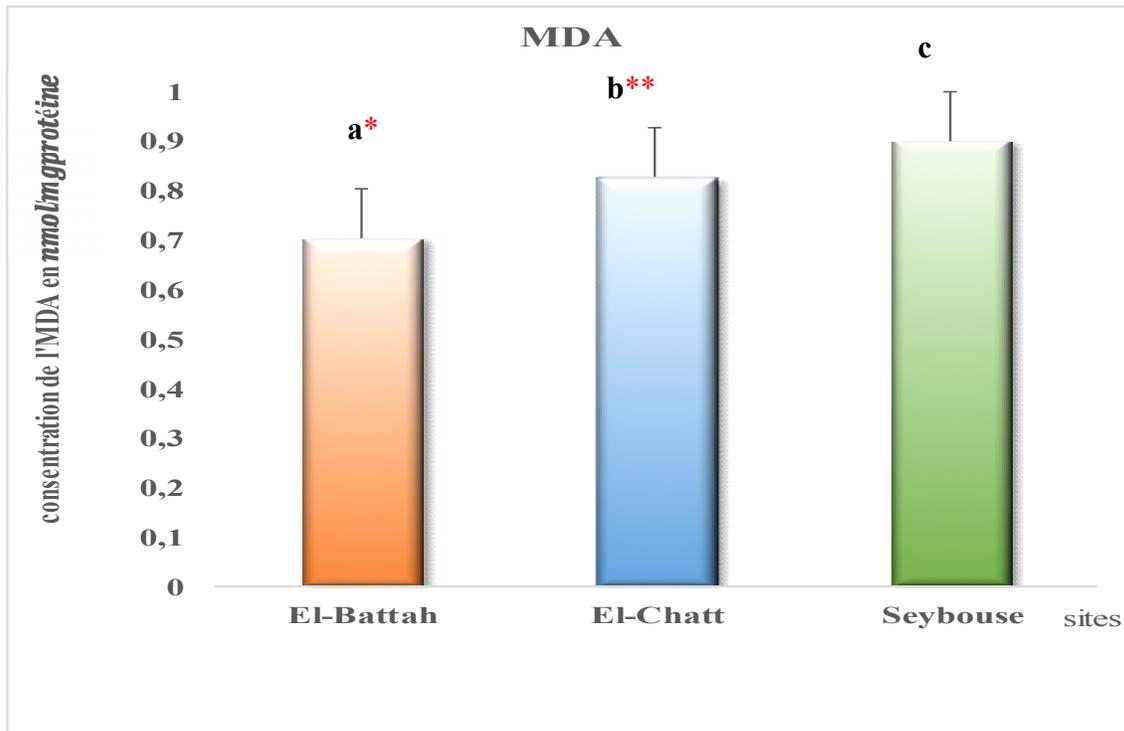


Figure 11 : Variation du taux du malondialdéhyde (MDA) (nmol /mg prot) chez le mollusque bivalve *Donax trunculus*

a : site 1 x site 2

b : site 1x site 3

c : site 2x site 3

* Significative lorsque ($P \leq 0,05$)

** Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).

1.3 Glutathion peroxydase (GPx) :

D'après la figure 11, on constate que le groupe d'individus au niveau du site d'El Chatt présente une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) du taux de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) et une diminution très hautement significative chez le groupe d'individus du site Seybouse par rapport au site témoin « El Battah ». Par contre, une légère augmentation, statistiquement non significative a été constatée entre les sites d'El-Chatt et Seybouse.

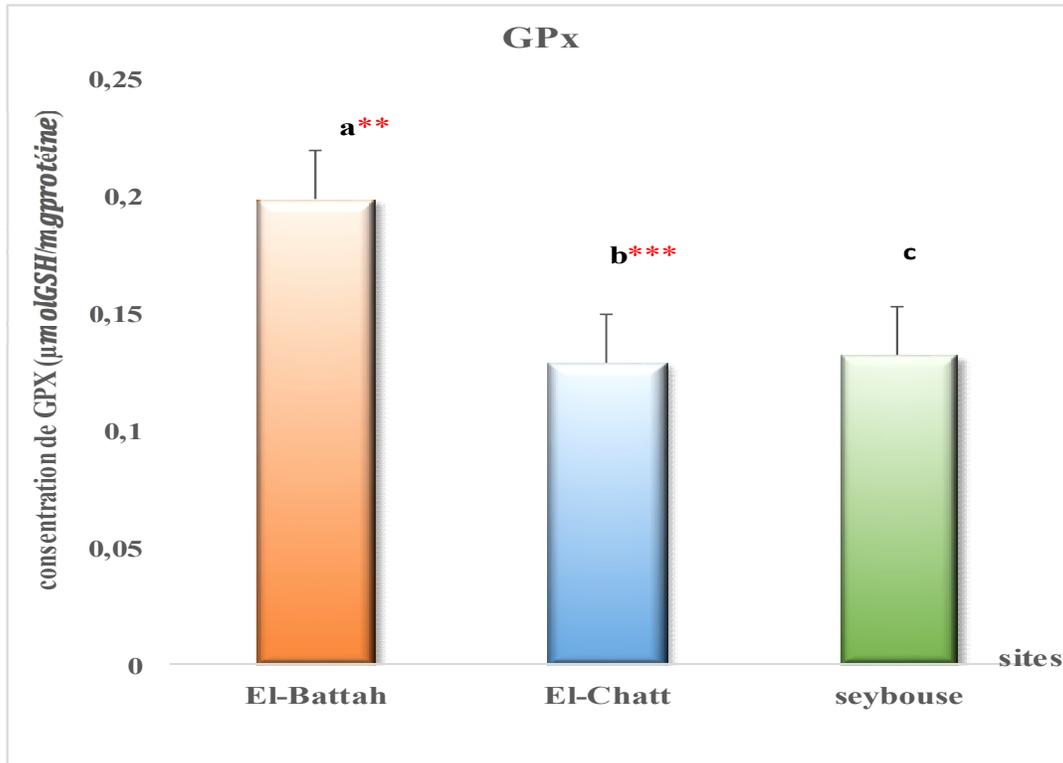


Figure 12 : Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) (µmol GSH/mg prot) chez le mollusque bivalve *Donax trunculus*

a : site 1 x site 2

b : site 1x site 3

c : site 2x site 3

* Significative lorsque ($P \leq 0,05$) ;

** Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).

*** Très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

2. Discussion

Les eaux naturelles contiennent un mélange complexe de métaux traces. Ces métaux sont issus de processus géologiques, donc naturels ou proviennent de l'activité humaine. Cette dernière source est souvent dominante (**Phillips et Rainbow, 1993**). La bioaccumulation de ces contaminants dépend de leurs propriétés biochimiques et des processus individuels d'accumulation propres à chaque organisme et pour chacun des éléments.

Beaucoup d'organismes marins accumulent des contaminants à de très fortes concentrations dans leurs tissus tels que, les moules, les huîtres et les palourdes. Leur utilisation pour la surveillance des pollutions aquatiques (**NAS, 1980 ; Regoli et Orlando, 1993 ; Langston et Spence, 1995**). En effet, les contaminants peuvent être dissous ou associés à du matériel particulaire exemple la nourriture (**Kremiling, 1988**).

Trois types de mesure de contaminants sont soutenus d'être réalisable dans le milieu marin : des dosages dans l'eau de mer, les sédiments et la matière vivante. En particulier les dosages des certains paramètres pour le troisième choix de mesure a accompli l'inquiétude de plusieurs chercheur.

A propos de cette étude, il sera intéressant d'effectuer le dosage des métaux lourds pour confirmer l'existence de ces éléments. D'ailleurs les variations saisonnières chez l'espèce *D. trunculus* au niveau du golfe d'Annaba ont été estimées à partir de données bibliographique (**Drif et Abdenour, 2010**). Cependant, les estrans de la région d'Annaba sont mis en contact avec toutes sortes de pollution urbaines et industrielles dus à l'activité humaine intense. L'examen global des résultats chez *D. trunculus* a révélé des concentrations très importantes des différents métaux étudiés ainsi que leur hétérogénéité. Ceci peut s'expliquer par la nature sédentaire ainsi que par son mode de nutrition qui se fait par filtration, entraînant une accumulation maximale d'éléments toxiques. Cette accumulation dépend probablement de la cinétique plus lente de l'excrétion que celle de l'absorption des métaux chez les organismes aquatiques (**Phillips et Rainbow, 1993**).

Revenant aux résultats trouvés déjà la station d'El-Battah a enregistré des concentrations inférieure au seuil d'atteindre une tel sorte de contamination. Ainsi, les résultats obtenus ont montré de fortes variations spatiales des concentrations corporelles totales chez les bivalves, indiquant que la zone côtière est soumise à différents degrés de pollution. Le site à proximité de l'embouchure de Seybouse a enregistré les plus fortes concentrations de métal. La station El-Chatt est soumise à des effluents urbains composés principalement d'eaux usées riches en matière organique. Egalement elle est contaminée mais à un degré moindre par rapport à la station de la Seybouse. Il a été enregistré que chez les animaux

exposés à la pollution industrielle, les concentrations de métaux sont plus élevées que ceux exposés à la pollution organique.

Cependant, le degré de bioaccumulation diffère parmi les métaux testés, étant plus élevée pour les éléments essentiels tel que le cuivre et le zinc. Il convient de mentionner que les métaux essentiels sont indispensables pour la survie des moules en quantités raisonnables (**Rainbow, 1993**) puisqu'ils sont impliqués dans de nombreuses activités biochimiques (**Underwood, 1977**).

Ces constatations sont confirmées par des paramètres physico-chimiques indiquant qu'une série de facteurs exogènes et endogènes peut agir sur la bioaccumulation des métaux dans un mode complexe tels que la disponibilité de la nourriture, la température et la salinité de l'eau de mer et (**Fearman et al., 2009** et **Blicher et al., 2010** ; **Moore, 1976, Moore, 1979** et **Bayne et al., 1981**). Ainsi que des facteurs endogènes relatifs au cycle de reproduction et le vieillissement (**Regoli, 1992**).

La bioaccumulation des métaux varie de façon saisonnière, avec les valeurs les plus élevées pendant les périodes plus froides et pluvieuses (hiver, printemps) et contrairement pendant la saison estivale de Juin à Août, d'où les pipelines sont fermés temporairement pendant la saison estivale. La diminution observée des concentrations de métaux en été est probablement due à la fermeture de ces canalisations. D'une part, de hautes températures estivales qui accélèrent la croissance des corps des bivalves, pourraient diluer le contenu des corps métalliques conduisant à la réduction du métal. Sachant que, chez les femelles l'émission des gamètes nécessitent une grande consommation d'énergie et d'oxygène, cette émission entraîne un affaiblissement général des individus qui se présente par une importante perte de poids ainsi qu'un dégagement du métal. Plusieurs travaux ont montré chez les mollusques marins que les concentrations métalliques sont plus élevées en hiver qu'en été (**Pentreath, 1973** ; **Bryan, 1976** ; **Phillips, 1976**). La même observation est notée chez la moule *Mytilus edulis* (**Fowler et Oregioni, 1976, Poham et D'Auria, 1982**), chez *Mytilus edulis*, *Perna vindis*, *Crassostrea gigas* et *Macoma balthica* (**Phillips, 1976; Amiard et al., 1986; Chu et al., 1990; Boyden et Phillips, 1981; Bordin et al., 1992**). Par contre, les observations d'Uysal (**1981**) et **Taleb et Boutiba (2007)** chez *M. galloprovincialis* montrent une contamination par différents métaux lourds. Confirmant que l'hiver reste la saison où les concentrations sont très basses, en raison du fort gradient courantologique hivernal entraînant une meilleure dispersion des éléments polluants. Alors que les plus élevées sont enregistrées pendant l'été. D'autres auteurs ont observé que les teneurs les plus fortes sont notées plutôt au printemps et les plus faibles en automne (**Radenac et al., 1997**) chez l'espèce *Mytilus edulis*. Donc le facteur saisonnier est important et cette variation est susceptible d'affecter les processus physiologiques des bivalves (**Essedaoui et Sif, 2001** ; **Sif et al., 2002**).

Egalement, des événements physiologiques ont été influencés par cette contamination, comme étant la longévité, la croissance et tous les métabolismes réactionnels.

Connaissant que les aliments apportent l'énergie au niveau mitochondrial et permettent de transformer cette énergie en ADP et en phosphore inorganique Pi. En milieu biologique il n'y a pas ce système anode-cathode, le transfert des électrons se fait dans le cytosol de la cellule ou au niveau des membranes cellulaires. Là où se génèrent les radicaux libres responsable d'un stress oxydatif.

Le métabolisme aérobie s'accompagne d'une production de substances oxydantes potentiellement toxiques pour l'organisme. Dont la toxicité implique souvent des réactions oxydatives intra- ou extracellulaires. Contre ce flux oxydant, l'organisme dispose de divers moyens de défense dont la particularité est de pouvoir s'adapter à l'intensité de l'agression. Cet équilibre complexe entre flux oxydants et défenses antioxydante peut être rompu, conduisant à des lésions tissulaires.

L'organisme possède des enzymes qui permettent de lutter contre le stress oxydant. Cependant ces enzymes peuvent être affectées par les métaux lourds, qui agissent en provoquant la décroissance des activités des enzymes antioxydantes telles que la Glutathion - S- transférase (GST), la catalase (CAT) et Glutathion peroxydase (GPx) **(Ramos et al., 1995)**.

Lors d'un stress environnemental, les organismes limitent la synthèse des protéines par les ribosomes inactifs stockés qui sont réactivés rapidement lorsque les conditions sont améliorées. Un moyen efficace pour mesurer les effets du stress de la pollution sur l'activité de la traduction est d'analyser l'état d'agrégation des ribosomes, qui peut servir d'indicateur de l'efficacité de la machinerie de la synthèse protéique **(Larade et Storey, 2002. Kalpaxis et al., 2003. Kalpaxis et al., 2004, et Storey et Storey, 2004)**.

Toutes ces observations soulignent l'importance de la détermination des aberrations dans la fonction de synthèse de la protéine comme un outil valable pour identifier et caractériser les effets biologiques de la pollution. Sachant que les molécules ou les enzymes synthétisées au niveau des corps des animaux sont de nature protéique, citant la métallothionine, le glutathion et l'acide cystéine.

Ainsi que la plus part des protéines possèdent des groupements thiols (-SH) ces dernières réagissent très facilement avec les métaux lourds et les radicaux libres générés par ces éléments et par conséquent ces protéines peuvent se dénaturer et se fragmenter, ou perdre leurs structures primaires et secondaires **(Aposhian et Aposhian, 1989)**.

La métallothionéines et les polypeptides sont impliqués dans la séquestration des métaux toxiques (Cd, Hg) ou essentielle (Zn, Cu). ils ont été proposés comme biomarqueurs sensibles dans l'évaluation de l'exposition aux métaux et la prédiction des effets néfastes potentiels induits par la contamination métallique (**Roesijadi, 1992, Bolognesi et al., 1999, Cosson, 2000, Isani et al., 2000 et Ivanković et al., 2005**).

L'évaluation des bio-marqueurs mesurés au niveau cellulaire ou moléculaire a été considérée comme «signaux d'alerte précoce», utiles pour détecter rapidement les effets biologiques résultant de diverses sources de pollution et peu capables de prédire les changements à long terme.

Le GSH joue un rôle clé dans la détoxification des radicaux libres et des métaux lourds (**Hultberg et al., 2001**); et dans le cas des métaux lourds, ces dernier interagis directement avec une forte affinité aux groupements thiols (-SH) du GSH, deuxièmement, le glutathion peut aussi interagir avec les radicaux libres générés par ce métalloïde (**Chen et al., 1998; Ito et al., 1998; Flora, 1999; Flora et al., 2005**).

Nos résultats enregistrent une diminution significative du taux de GSH réduit chez les individus de *D. trunculus* au niveau des deux sites contaminés. Cette diminution est liée à une faible synthèse pour produire la GSH. Signalant que les éléments métalliques inhibent la glutathion synthétase, et la glutathion réductase, donc peu de GSH est produit. Tous ces facteurs conduisent à une forte diminution du glutathion réduit (GSH) et une augmentation du glutathion oxydé (GSSG), et par conséquence une diminution de l'activité des enzymes GSH-dépendantes Outre, les concentrations normaux de la GSH formant des complexes métalliques désactivés (**Wang et al., 2008**).

Concernant malondialdéhyde (MDA) qui est un bio-marqueur responsable de la peroxydation lipidique, les résultats ont révélés des augmentations significatives au niveau des 2 sites pollués en les comparants avec le site témoin. Tandis, aucune différence significative n'a été signalée entre les 2 sites pollués. De même, il a été observé une élévation du taux de (MDA) chez les individus de des bivalves au niveau des stations contaminées (**Favier, 1997 ; Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

Nos résultats confirment ceux de **Ramos et al., (1995)** qui ont trouvé une altération du statut antioxydant chez des rattes traitées par l'arsenic. Cette altération est accompagnée d'une augmentation de la peroxydation lipidique et d'une diminution du taux de GSH cellulaire.

La GPx est une enzyme antioxydante clé qui règle le niveau des ROS (la GPx est capable de non seulement de réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, mais aussi les hydroperoxydes résultants de l'oxydation des acides gras insaturés) et donc protège les

cellules contre les dégâts générés par les métaux lourds (**Wang et al., 1997; Jing et al., 1999**).

D'après nos résultats on observe une diminution de l'activité GPx dans les corps des individus échantillonnés des sites pollués. Cette diminution due principalement à une surproduction de peroxyde d'hydrogène et l'épuisement des molécules tel que la GSH impliquée dans la détoxification de ces polluants (**Aposhian et al., 1999 ; Shila et al., 2005**). Ce qui entraîne une diminution de l'activité enzymatique de la GPx (GPx a besoin du glutathion et de certains éléments essentiels impliqués dans sa structure moléculaire exp : le sélénium pour un bon fonctionnement) (**Nielson, 1995**). Contrairement, les travaux de **Regoli et al., (2006)** ont montré une activité plus élevée chez des individus de *Mytilus edulis* collectés dans des endroits pollués.

CONCLUSION

Dans cette étude nous avons évalué l'impact des métaux lourds sur quelques antioxydants chez les mollusques bivalves dans le but de protéger l'environnement, nous devons trouver des solutions pour l'élimination de substances polluantes telles que les métaux lourds rejetés par l'industrie des usines. C'est dans cet esprit que nous avons utilisés un bio indicateur « *Donax trunculus* » en vue d'évaluer leurs impacts sur la vie aquatique.

Des analyses ont été réalisées pendant les mois d'Octobre dans les trois sites d'études choisis. Tout d'abord, nous avons pris le site El-Chatte comme modèle de la pollution organique et Seybouse comme modèle de la pollution industrielle en comparaison au site d'El-Battah choisi comme site témoin. Du fait, qu'il est loin de toutes sortes de pollution.

D'après les analyses effectuées, on a enregistré une perturbation des taux des antioxydants étudié. D'où on a remarqué une diminution du taux de la GSH et de l'activité enzymatique GPx, par contre une augmentation de l'MDA aux niveaux de 2 sites pollués par rapport au site témoin.

On peut conclure qu'il y a une pollution. Au terme de cette étude, nous pouvons dire que :

- Cette étude suggère que cette espèce peut être utilisée dans la surveillance de pollution métallique. Cependant, la consommation des bivalves récoltés des sites pollués choisis pour cette étude est ainsi fortement déconseillée.

Il serait préférable de réfère le dosage de quelque élément métallique (essentiels et non essentiels) pour pouvoir faire des corrélations entre les concentrations des métaux trouve dans le corps des individus échantillonner et le taux des antioxydants réaliser

Il serait intéressant de multiplier le nombre d'individus et de répéter les dosages effectuer au cours d'autres période durant l'année pour la confirmation. En perspective, il serait intéressant de développer ces recherches par :

- L'analyse des eaux et du sédiment afin d'évaluer la nature des polluants présents.
- Dosages d'autres biomarqueurs comme le cytochrome P450, le superoxyde dismutases (SOD), la glutathion peroxydase (GSH-Px), la catalase et la métallothionéine afin d'aboutir à des informations complémentaires sur l'action des métaux lourds chez *D. trunculus*.

REFERENCES

-
- **Abuja P.M. & Albertini R. (2001).** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, **306**: 1-17p.
 - **Amouroux J.M. (1974).** Etude des peuplements infralittoraux de la côte du Roussillon III. Variations spatiales et saisonnières. *Vie Milieu*, **24**: 321-354p.
 - **Ansell A.D. & Lagardère F. (1980).** Observation on the biology of *Donax trunculus* and *Donax vittatus* at île d'Oleron (French Atlantic Coast). *Mar. Biol.*, **57**: 287-300p.
 - **Aust S.D., Morehouse L.A. & Thomas C.E. (1985).** Role of metals in oxygen radical reactions. *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, **1**: 3-25p.
 - **Adriano D.C. (1986).** Trace elements in terrestrial environments. *Springer-Verlag, Inc. NewYork*, 134p.
 - **Braia H. & Moulka F. (2009).** Toxicité comparée du malathion et du cadmium a l'égard de *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) et mesures de biomarqueurs. *Mémoire de magister, université Badji Mokhtar, Annaba*, 24p
 - **Babich H. & Stotzky G. (1980).** Environmental factors that influence the toxicity of heavy metals and gaseous pollutants to microorganisms. *Crit. Rev. Microbial*, **8**: 99-145p.
 - **Bouquet D. (2001).** La méditerranée en péril. 4p.
 - **Bendimered M.A. (2000).** Effet de la pollution cadmique sur une population de moules *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1816). *Notion de bio. Essa. Mémoire de magister, université Es-Senia. Oron*, p5-7.
 - **Bayed A. (1998).** Variabilité de la croissance de *Donax trunculussur* le littoral Marocain. *CIHEM, options méditerranéennes*, 11-23p.
-

-
- **Baskin S.I. & Salem H. (1994).** Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. *Academic press. Inc*, **363**:25-62p.
 - **Betteridge D.J. (2000).** What is oxidative stress? *Metabolism 49 suppl. 1*: 3-8p.
 - **Beaudeau J.L., Delattre J. & Peynet J. (2003).** Lipoprotéines et athérosclérose : mécanismes moléculaires et cellulaires. In : *Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J.C. Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-Sciences Flammarion, Paris.* 91-107p.
 - **Bouquegneau J.M. & Gilles R. (1979).** Osmoregulation and pollution of the aquatic medium. In metabolism and osmoregulation in animals. *Gilles R. Ed, John Wiley and sons, New York.*
 - **Bryan S.E. & Hidalgo H.A. (1976).** Nuclear 115 cadmium: uptake and disappearance correlated with cadmium binding protein synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, **68**: 858-865p.
 - **Bustamente P., Cherel Y., Caurant F. & Miramand P. (1998).** Cadmium, Copper and Zinc in octopuses from Kerguelen Islands, Southern Indian Ocean. *PolarBiol.*, **19** (4), 264-271p.
 - **Cotzias G.C. (1967).** Importance of traces substances in environmental health as exemplified by manganese. *University of Missouri's first annual conference on trace substance in environmental health, Missouri, U.S.A.*
 - **Cadet J., Delatour T., Douki T., Gasparutto D., Pouget J.P., Ravanat J. & Sanvaigo. L. (1999).** Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat.* **424**:9-21p.
 - **Cadenas E. (1989).** Lipid peroxidation during the oxidation of haemoproteins by hydroperoxides. Relation to electronically excited state formation. *J. Biol. Univ. Chem. Ilumin.*, **4**(1): 18-208p.
 - **Cheung C.C., Zheng G.J., Lam P.K. & Richardson B.J. (2002).** Relationships between tissue concentrations of chlorinated hydrocarbons (polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides) and antioxidative responses of marine mussels *Perna viridis*. *Mar. Poll. Bull.*, **45**: 181-191p.
-

-
- **Crine M. (1993).** Le traitement des eaux industrielles chargées en métaux lourds. *Tribune de l'eau*, **561**: 3-19p.
 - **Casas S. (2005).** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. *Thèse de doctorat : Océanologie biologique, Environnement marin*, 314p.
 - **Donnier B. (2007).** Pollution chimique en Méditerranée. *CER BOM (I N S E R M)*. Nice.
 - **Deval P. (2001).** Les phénomènes de pollution dans les pays en voie de développement. *Hachette multimédia*, 25p.
 - **Darley-Usmar V., Wiseman H. & Halliwell B. (1995).** Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Letters*, **369**: 131-135p.
 - **Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N. & Avimadj M. (2008).** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine. Gvozdjakova A (ed)*, 19-43p.
 - **Delattre J. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. *ed: TECDOC. Londres-paris New York*, 620p.
 - **Deneke SM. & Fanburg B.L. (1989).** Regulation of cellular glutathione. *Am J. Physiol.*, **257**: 163-73p.
 - **Dringen R. (2000).** Glutathione metabolism and oxidative stress in neurodegeneration. *Eur. J. Biochem.*, **267**(16):4903p.
 - **Dore M. (1989).** Chimie des oxydants de traitement des eaux. *Ed. Lavoisier. Paris*.
 - **Dianzani M.U. & Ugazio G. (1978).** Lipid peroxydation. In Biochemical mechanisms of liver injury. *Salter T.F Ed. Academic press. London*. 669p.
 - **Danis B., Bustamente P., Cortet O., Teyssie J., Fowler S. & Warnau M. (2005).** Bioaccumulation of PCB in the cuttle fish *Sepia officinalis* from seawater, sediment and food pathways. *Environ. Pollut.*, 134p
-

-
- **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H. & Jungens G. (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.* **13**: 341p.
 - **Essig D.A. & Nosek T.M. (1997).** Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species. *Can. J. Appl. Physiol.* **22**: 409-428p.
 - **Evtushenko Z.S., Belcheva N.N. & Lukyanova O.N. (1986).** Cadmium accumulation in organs of the scallop *Mizuhopecten yessoensis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **83**: 377-382p.
 - **Fisher W.S., Auffret M. & Balouet G. (1971).** Response of European flat oyster (*Ostrea edulis*) hemocytes to acute salinity and temperature changes. *Aquaculture*, **67**: 179-190p.
 - **Fisher W., Bauchat M.L. & Schneider F.M. (1987).** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche, Méditerranéen et en mer noire. *Zone de pêche 37. Volume 1 : Végétaux et invertébrés. FAO/CEE.*, 76p.
 - **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115p.
 - **Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **64**(6) : 390-396p.
 - **Ferrari C.K.B. (2001).** Oxidative stress pathophysiology: searching for an effective antioxidant protection. *International Medical Journal* **8**: 175-184p.
 - **Forbes T.L, Forbes V.E., & Rwiere J.L. (1997).** Ecotoxicologie.théorie et applications. *Ed. Quae,Paris*, 27p.
 - **Galaf F. & Ghannam S. (2003).** Contribution à l'élaboration d'un manuel et d'un site web sur la pollution du milieu. *Mémoire d'ingénieur d'Etat en Agronomie Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Rabat.* 2p.
-

-
- **Gimenez M. (1999).** Evaluation de la répartition du gisement de *Donax trunculus* dans le golfe de Beauduc. *Centre universitaire d'Arles, Réserve Nationale de Camargue, SNEN.*, 23p.
 - **Glaumann H. & Ballard F.J. (1987).** Lysosomes: Their role in protein break down. *Academic press. London.*
 - **George S.G. (1972).** Subcellular accumulation and detoxication of metals in aquatic animals. In physiological mechanisms of marine pollutant toxicity. *Vernberg W.B., Calabrese A., Thurberg F.P., Vernberg F. J. Ed. Academic press. New York.*
 - **Halliwell B. (2002).** Effect of diabet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker? *Free radical biology and Medicine*, **110**: 968-974p.
 - **Halliwell B. (2009).** the wanderings of a free radical. *Free radial biology & Medicine*, **46**: 531-542p.
 - **Hayakawa M., Ogawa T., Sugiyama S., Tanaka M. & Ozawa T. (1991).** Massive conversion of guanosine to 8-hydroxy-guanosine in mouse liver mitochondrial DNA by administration of azidothymidine. *Biochemical and biophysical research communications*, **176**: 87-93p.
 - **Humbert C.P. (1962).** Les mollusques marins testacés du Maroc. II- Lamellibranches et Scaphopodes. *Travaux de l'institut scientifique Chérifi en Série Zoologique Rebat*, **28**: 184 p.
 - **Kehrer J.P. (1993).** Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical review in toxicology*, **23** (1): 21-48p.
 - **Khalil A. (2002).** Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **80**(7): 662-669p.
 - **Kaplowitz N. & De-Leve L.D. (1991).** Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacol . Therap.* **52**:287-305p.
-

-
- **Lucas A. (1965).** Recherche sur la sexualité des Mollusques Bivalves. *Thèse, Rennes*, 135p.
 - **Levine R.L. (2002).** Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease. *Free radical.Biol.Med.* **32**: 790-796p.
 - **Livingstone D.R. (2001).** Contaminant stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar. Poll. Bull.*, **42**: 656-666p.
 - **Legret M., Divet L., & Juste C. (1988).** Migration et spéciation des métaux lourds dans un sol soumis à des épandages de boues de station d'épuration à très forte charge en Cd et Ni. *Water Ressources*, **22**: 953-959p.
 - **Marnett L.J. (1999).** Lipid peroxidation-DNA damage by Malondialdehyde. *Mutat. Res.*, **424**: 83-95p.
 - **Mate T. (2002).** Plan National d'Actions pour l'Environnement et le développement durable. (*PNAE-DD*). 44p.
 - **Matès J.M., Perez-Gomez C. & Numez de castro, I. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Bio. chem.*, **32**: 595-603p.
 - **Matès J.M. (2000).** Effect of antioxidant enzyme in the molecular control of reactive oxygen species. *Toxicology*, **153**: 83-104p.
 - **Miquel M. (2001).** Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. *Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. N° 2979 Assemblée Nationale, N°261 Sénat.*
 - **Mouëza M. (1971).** Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque, Lamelibranche). *Thèse de Doctorat en science Biologiques mention Océanographie*, 130p.
 - **Mouëza M. (1972).** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque, Lamelibranche) dans l'Algérois : la croissance. *Pelagos*, **4**: 25-35p.
-

-
- **Mouëza M. & Frenkiel-Renault L. (1973).** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusques, Lamellibranches) dans l'Algérois : la reproduction. *Cab.Biol. Mar.*, **14**: 261-283p.
 - **Mouëza M. & Chessel D. (1976).** Contribution à l'étude de la Biologie de *Donax trunculus*. (Mollusque, lamellibranche) dans l'Algérois : analyse statistique de la dispersion le long d'une plage en baie de Bou-Ismaïl. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **21**: 211-221p.
 - **Montagnier L., Olivier R. & Pasquier C. (1998).** Oxidative stress in cancer, AIDS, and neurodegenerative diseases. *Marcel Dekker, New York*.
 - **Moore M.N. & Viarengo A. (1987).** Lysosomal membrane fragility and catabolism of cytosolic proteins: evidence for a direct relationship. *Experientia*, **43**: 320-329p.
 - **Neuberger Cywik L., Achituve Y. & Mizrahi L. (1989).** The ecology of *Donax trunculus* Linnaeus and *Donax semistriatus* poly form the Mediterranean coast of Israel. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **134**: 203-220p.
 - **Nair J., Barbin A., Velic I. & Bartsch H. (1999).** Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat.* 424: 59-69p.
 - **Nriagu J.O. & Pacyna J.M. (1988).** Quantitative assessment of worldwide contamination by trace metals. *Nature*, **333**: 134-139p.
 - **Pincemail J, Meurisse M, Limet R. & Defraigne J.O. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, **4**(5).
 - **Priyadarsini K. I. (2005).** Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radio protectors. *Founder's Day Special Issue*: 1-6p.
 - **Penninckx M. (2000).** A short review on the role of glutathione in the response of yeasts to nutritional, environmental, and oxidative stresses. *Enzyme Microbiol. Technol.* **1**, **26**(9-10): 737-742p.
-

-
- **Pocernich C.B., La Fontaine M., & Butterfield D.A. (2000).** In-vivo glutathione elevation protects against hydroxyl free radical-induced protein oxidation in rat brain. *Neurochem. Int.*, **36**(3):185-91p.
 - **Regoli F., Nigro M. & Orlando E. (1998).** Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamusium Colbecki*. *Aquatic toxicology*, 375p.
 - **Ramade F. (1992).** Précis d'écotoxicologie. *Edt. Masson*. 224p.
 - **Ramon M., Abello P. & Richardson C.A. (1995).** Population structure and growth of *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae) in the western Mediterranean. *Marine Biology*.**121**: 665-671p.
 - **Roméo M., & Gnassiabarelli M. (1988).** *Donax trunculus* and *Venus verrucosa* as bioindicators of trace metal concentrations in Mauritanian coastal waters. *Marine Biology*, **99**: 223-227p.
 - **Rees M.D., Kennett E.C., Whitelock J.M & Davies M.J. (2008).** Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. *Free radical biology & Medicine*, **44**: 1973-2001p.
 - **Salas C. (1987).** Ecologia de los Donacidae (Mollusca, Bivalvia) de la Bahía de Malaga (SE de Espana). *Inv.Pesa.*, **51**: 67-77p.
 - **Staniek K. & Nohl H. (2000).** Are mitochondria a permanent source of reactive oxygen species? *Biochimica, Biophysica,Acta.*, **1460**: 268-275p.
 - **Stevnsner T., Tharslund T., Desouza-pinto N.C. & Bohr V.A. (2002).** Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp...gerontol.*, **37**: 1189-1196p.
 - **Schafer F.Q. & Buettner G.R. (2001).** Redox environment of the cell as reviewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free. Radic. Biol. Med*, **30** (11): 1191-1212p.
 - **Sies H., Dafré A.L., Ji Y. & Akerboom T.P. (1998).** Protein S-thiolation and redox regulation of membrane-bound glutathione transferase. *Chem. Biol. Interact.*, **24**:177-85p.
-

-
- **Salunkhe D.K. (1990).** Dietary tannins: consequences and remedies. *Boca Raton, Florida: CRC press.*
 - **Sen C.K. (2001).** Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction. *Med. Sci. Sports. Exer.*, **33** (3): 368-370p.
 - **Thornton I. (1981).** Geochemical aspects of the distribution and forms of heavy metals. Eds. Applied Science Publisher, London, 1-34p.
 - **Ursini F., Tubaro F., Rong J. & Sevanian A. (1999).** Optimization of nutrition: Polyphenols and vascular protection. *Nutrition reviews.*, **57**(8): 241-249p.
 - **Vertuani S., Angusti A. & Manfredini S. (2004).** The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Cur. Pharm. Des.*, **10**(14): 1677-94p.
 - **Viarengo A. (1989).** Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *Aquat. Sci.*, **1**: 295-317p.
 - **Viarengo A, Pertica M, Mancinelli G, Palmero S, & Orunesu M. (1982).** Effects of Cu⁺⁺ on nuclear RNA polymerase activities in mussel digestive gland. *Mar. Biol. Lett.*, **3**: 345-353p.
 - **Viarengo A. (1989).** Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *Aquat. Sci.*, **1**: 295-317p.
 - **Welch W.J. (1992).** Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol. Rev.*, **72**: 1063-1081p.
 - **Winterbourn C.C. & Munday R. (1990).** Concerted action of reduced glutathione and superoxide dismutase in preventing redox cycling of dihydroxypyrimidines, and their role in antioxidant defense. *Free Radic. Res. Commun*, **8**(4-6): 287-93p.
 - **Zelko I.N., Marian T.J. & Folz R.J. (2002).** Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the Cu/Zn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD
-

(SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Rad. Biol. Med.*, **33** (3): 337-349p.

 **Liens**

(1). Consulter le : 27/12/2014 à 22.15

<http://www.futura-sciences.com/magazines/nature/infos/dico/d/classification-vivant-biodiversite-3625/>

(2). Consulter le : 27/12/2014 à 22.30

http://www.actu-environnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition/biosphere.php4

(3). Consulter le : 27/12/2014 à 22.13

<http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/cycle/eauHydrosp.html>

(4). Consulter le : 27/12/2014 à 22.56

www.safewater.org

(5). Consulter le : 27/12/2014 à 23.07

http://fr.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:Lumi%C3%A8re_sur/Bivalvia

(6) .consulter le : 05/01/2015

<http://www.toupie.org/Dictionnaire/Pollution.htm>

PRÉPARATION DES SOLUTIONS

1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford :

- ✓ Solution BSA (1mg/ml) : Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée.
- ✓ Réactif de Bradford : Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G250) dans 50ml d'éthanol (95%). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1L de solution). Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1mois au maximum à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

2. Dosage du glutathion :

- ✓ Solution Tris (0,4 M), EDTA (0,02 M) et pH 9,6 : Dissoudre 12,114g Tris et 1,871g EDTA dans 250ml d'eau distillée et ajuster le pH à 9,6 en ajoutant HCL ou NaOH.
- ✓ Solution EDTA (0,02 M) : Dissoudre 5,613g EDTA dans 750ml d'eau distillée.
- ✓ Solution DTNB (0,01 M) : Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.
- ✓ Solution d'acide salicylique (0,25%) : Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100ml d'eau distillée.

3. Dosage du MDA :

- ✓ Solution TBS : Tris (50mM), NaCl (150mM) et pH 7,4 : Dissoudre 8,775g NaCl dans 1L d'eau distillée, puis poser 6,057g Tris et compléter le volume à 1l par la solution NaCl (150mM) et ajuster le pH à 7,4 en ajoutant HCL ou NaOH.
- ✓ Solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) : Dissoudre 20g TCA dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir la solution TCA 20% puis poser 1g de BHT et compléter le volume à 100 ml par la solution TCA 20% et agiter à chaud.
- ✓ Solution HCl 0.6 M : Dissoudre 51,56 ml d'HCl pur et compléter le volume à 1L par l'eau distillée.
- ✓ Solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM) : Dissoudre 3,149g Tris dans 1L d'eau distillée, puis poser 17,299g TBA et compléter le volume à 1L par la solution Tris (26 mM).

4. Dosage du glutathion peroxydase (GPx) :

- ✓ Solution du GSH (0.1 mM) : Dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.
 - ✓ Solution TCA (1%) : Dissoudre 1g TCA dans 100 ml d'eau distillée.
 - ✓ Solution DTNB (1.0 mM) : Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 ml de méthanol absolu.
-

Résumé :

Ce travail est impliqué dans les études de recherche éco-toxicologique concernant la bio-surveillance des milieux marins. On se concentrant exactement sur les réponses subcellulaires « des biomarqueurs », dus aux substances toxiques « métaux lourds » et les effets qui se produisent chez les organismes, essentiellement chez le bivalve mollusque « *Donax trunculus* ». Ce dernier colonise les plages sableuse méditerranéennes dont les échantillons ont été pris le long du golfe d'Annaba.

De ce fait, on a dosé quelques anti oxydants (GSH, GPx, et MDA) mesurés dans le corps des individus échantillonnés au niveau des sites choisis (El-Battah a été prévu comme site référence, El-Chatt site pollué par les eaux usées et Seybouse site pollué par les déchets industriels) durant le mois de décembre 2014.

Les résultats obtenus révèlent une diminution du taux de glutathion réduit GSH et de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx. Tandis qu'une augmentation du taux de MDA (indice de la peroxydation lipidique) a été signalée.

Il est également important de noter que la variabilité des valeurs obtenues concernant ces taux nous renseigne sur la fiabilité de ces biomarqueurs qui peuvent offrir des informations assez complètes sur l'impact potentiel de ce genre de polluant considéré comme toxique pour la santé des êtres vivant généralement.

Mots clés : La pollution métallique ; le stress oxydant ; les radicaux libres ; les antioxydants ; le *D. trunculus*.

Abstract:

This work is involved in Eco toxicological research studies on bio-monitoring of marine environments. Focusing on subcellular responses of "biomarkers" from toxic substances "heavy metals" and the effects that occur in organisms, primarily in the bivalve mollusk "*Donax trunculus*". It colonizes sandy Mediterranean beaches which the samples were taken from along the Gulf of Annaba.

Therefore, we assayed some antioxidants (GSH, GPx and MDA) measured in the bodies of individuals sampled at selected sites (El-Battah was intended as reference site, El-Chatt polluted by sewage and Seybouse polluted by industrial waste) during the month of December 2014.

The results obtained show a decrease of reduced glutathione GSH and enzymatic activity of glutathione peroxidase GPx. While an increase in MDA levels (index of lipid peroxidation) was reported.

It is also important to note that the variability of the values obtained for these rates tells us about the reliability of these biomarkers may provide enough detailed information on the potential impact of this type of pollutant considered toxic to the health of living beings generally .

Keywords: The metal pollution; oxidative stress; free radicals; antioxidants; *D. trunculus*.

الملخص

هذا العمل يشارك في دراسة أبحاث السمية البيئية حول المراقبة البيولوجية للأوساط البحرية ونركز خاصة على الردود تحت الخلوية (مؤشرات حيوية) من المواد السامة (المعادن الثقيلة) والاثار التي تحدث في الكائنات الحية خاصة عند الرخوي ثنائي الصدفة (*Donax trunculus*) هذا الاخير كان يستعمر شواطئ البحر الابيض المتوسط التي اخدنا منها العينات على طول خليج عنابة.

لذلك عابرينا بعض المواد المضادة للأكسدة تقاس في أجسام أفراد العينات المأخوذة من المواقع المختارة شاطئ البطاح اختير كموقع شاهد وشاطئ الشط كموقع ملوث بمياه الصرف الصحي وسيبوس كموقع ملوث بالنفايات الصناعية خلال شهر ديسمبر 2014.

اطهرت النتائج انخفاض في مستوى الـ GSH والنشاط الانزيمي GPx في حين اطهرت زيادة في مستوى MDA (مؤشر بيروكسيد الدهون).

نلاحظ أيضاً أن قابلية التغير لهاته القيم المتعلقة بالكميات المذكورة. تعلمنا حول التأثيرات المحتملة لهذا النوع من الملوثات التي بدورها تعتبر سامة لصحة الكائنات الحية عموماً .

الكلمات المفتاح: التلوث بالمعادن .الاكسدة .الجنور الحرة .المواد المضادة للأكسدة.